Aus der Pharma - Forschung der
SCHERING AG, BERLIN-WEST
Direktor: Prof. Dr. M. KRAMER

UNTERSUCHUNGEN AN RATTEN ÜBER DIE BEDEUTUNG DER PERINATALEN ANDROGENE FÜR DIE GESCHLECHTSSPEZIFISCHE DIFFERENZIERUNG DER HYPOTHALAMISCHEN KERNGEBIETE, WELCHE DIE HYPOPHYSÄRE PROLACTIN-SEKRETION REGULIEREN.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christoph von Hasselbach
aus Breslau

1971

Aus der Pharma - Forschung der
SCHERING AG, BERLIN-WEST
Direktor: Prof. Dr. M. KRAMER

UNTERSUCHUNGEN AN RATTEN ÜBER DIE BEDEUTUNG DER PERINATALEN ANDROGENE FÜR DIE GESCHLECHTSSPEZIFISCHE DIFFERENZIERUNG DER HYPOTHALAMISCHEN KERNGEBIETE, WELCHE DIE HYPOPHYSÄRE PROLACTIN-SEKRETION REGULIEREN.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christoph von Hasselbach
aus Breslau

REFERENT : Professor Dr. med. Martin KRAMER

KORREFERENT : Professor Dr. med. Hans HERKEN

GEDRUCKT MIT GENEHMIGUNG DER MEDIZINISCHEN FACHBEREICHE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

PROMOVIERT AM : 19.11.1971

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

1.1. Die Geschichte der PROLACTIN - Forschung 1

1.2. Die Wirkung von PROLACTIN auf die Milchdrüse 3

1.2.1. Die hormonelle Steuerung des Milchdrüsenwachstums vor der Pubertät und nach dem Einsetzen der vollen Ovarfunktion 4

1.2.2. Die Abhängigkeit des Milchdrüsenaufbaus vom Zyklustyp 6

1.2.3. Die Abhängigkeit des Milchdrüsenaufbaus von der Hypophyse und im besonderen von PROLACTIN 7

1.2.4. Die Beziehung zwischen Hypophyse und Plazenta während der Schwangerschaft 8

1.2.5. Weitere mammogene Hormone; Übersicht über den mammogenen Hormonkomplex 8

1.3. Die Wirkung von PROLACTIN auf den Gelbkörper 11

1.4. Die Wirkung von PROLACTIN im männlichen Organismus 11

1.5. Der Regelkreis des PROLACTINS 13

1.5.1. Die Hypothalamus-Hypophysen-Achse 13

1.5.2. Die Beeinflußung des PIF durch verschiedene Steroidhormone und exogene Reize 14

1.6. Die Sexualdifferenzierung hypothalamischer Zentren 17

1.7. Problemstellung des Experiments 21

II. MATERIAL UND METHODEN 23

2.1. Tiermaterial und Behandlung 23

2.2. Einteilung der Gruppen 25

2.3. Präparation der Milchdrüsen 26

2.3.1. WHOLE MOUNT PREPARATION 28
2.3.2. Histologie 28
2.3.3. DNS - Bestimmung 29

2.4. Hypophysengewichte 30

III. ERGEBNISSE 31

3.1. WHOLE MOUNT PREPARATION 31

3.2. Histologie 42

3.3. DNS - Bestimmung 48

3.4. Hypophysengewichte 51

IV. DISKUSSION 54

4.1. Die biologische Bedeutung von PROLACTIN 54

4.1.1. Luteotrope Funktion 54
4.1.2. Mammotrope Funktion 54

4.2. Das Regulationsprinzip 54

4.2.1. Kein geschlossener Regelkreis 54
4.2.2. PIF - regulierende Faktoren 55

4.3. Aufgabenstellung der Arbeit 56

4.4. Begründung des Versuchsmodells 56

4.5. Interpretation der Ergebnisse 57

4.6. Kritische Würdigung der Methoden 63

V. ZUSAMMENFASSUNG 67
VI. LITERATURVERZEICHNIS 70
VII. DANKSAGUNG 93
VIII. LEBENSLAUF 94

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0043

I. E I N L E I T U N G

1.1. DIE GESCHICHTE DER PROLACTIN - FORSCHUNG

Fast bis zum Ende des 19. Jahrhunderts wußte man nichts über inkretorische Drüsen und Hormone. Nach der damaligen Auffassung sollte der Ablauf physiologischer Prozesse allein nervös gesteuert werden. So glaubte man auch von der Milchdrüse, daß ihre Entwicklung ausschließlich nervösen Einflüssen unterworfen sei. In zahlreichen Experimenten versuchte man, durch Reizung bzw. Durchtrennung von Nerven (z.B. die rami cutanei laterales der 2. - 5. Intercostalnerven der Ziege oder der den Euter der Ziege versorgende nervus spermaticus externus) eine Stimulierung bzw. Störung der Milchdrüsenfunktion auszulösen. (C.ECKHART 1858, GOLTZ 1874, ROEHRIG 1876 HEIDENHAIN 1880, O.v.HERFF 1889). Nachdem diese Versuche nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt hatten, erwog GOLTZ als Erster, daß nur " eine Veränderung des der Mamma zugeführten Blutes " für die Lactationsentwicklung der Milchdrüse verantwortlich sein könne. Neben MIRONOW (1894) und H.PFISTER (1901) war es vor allem BASCH (1906,1909,1910), der bei Hündinnen nachweisen konnte, daß die Stimulierung des Milchdrüsenwachstums und die Lactation humoral ausgelöst werden: Er transplantierte die am meisten caudal gelegene Milchdrüse einer Hündin auf den Rücken desselben Tieres. Als die Hündin Junge warf, sonderte die transplantierte Drüse ebenso Colostrum ab wie die anderen normalen Drüsen.

Trotzdem dauerte es noch bis in die späten zwanziger Jahre, bevor die Bedeutung des Hypophysenvorderlappens

für die Milchdrüse erkannt wurde. Nachdem ASCHHEIM und ZONDEK 1927 die gonadotrope Wirkung von Vorderlappenextrakten entdeckt hatten, stellten STRICKER und GRUETER 1928 bei der Wiederholung der Versuche fest, daß diese Extrakte auch die Milchdrüse beeinflußten: Nach Gabe von Hypophysenvorderlappen - Extrakten trat bei pseudograviden Kaninchen reichliche Milchbildung in den entwickelten, aber noch nicht sezernierenden Drüsen ein. Die gleichen Ergebnisse wurden bei Kühen, Schweinen und Hunden erzielt (STRICKER und GRUETER 1928, 1929). EHRHARDT, WIESBACHER und FOSCANEANU konnten 1929 bei Rhesusaffen Brustdrüsenschwellung und Colostrumbildung hervorrufen, nachdem sie die Tiere vier Wochen lang mit Hypophysenvorderlappen - Extrakten behandelt hatten.

5 Jahre nach den Beobachtungen von STRICKER und GRUETER konnten RIDDLE, BATES und DYKSHORN (1933) aus dem Hypophysenvorderlappen eine Substanz isolieren, der sie die mammogenen Effekte des Hypophysenvorderlappens zuschrieben. Diese Substanz nannten sie PROLACTIN. Außerdem stellten sie fest, daß Tauben die Injektion von PROLACTIN in die Kropfhaut mit einer Gewebsreaktion beantworten, die in einem linearen Verhältnis zur gespritzten Dosis steht. Davon ausgehend führten RIDDLE und BATES 1939 einen biologischen PROLACTIN - Test ein, den sogenannten Taubenkropftest, der noch bis heute die einzige Prolactinbestimmung mit internationalem Standard geblieben ist.

An der Aufklärung der Chemie dieses Proteinhormons (Isoelektrischer Punkt bei pH 5,6 - 5,7; Molekulargewicht von 24.200) waren vor allem LI, WHITE, COLE

und EVANS beteiligt. (LI et al. 1941,1942, WHITE et al. 1942, LI und EVANS 1948, 1957, LI 1952, LI et al. 1954, LI und COLE 1955, COLE et al. 1957, LI und CUMMINS 1958).

EMMART, SPICER und BATES gelang es 1963, prolactinproduzierende Zellen im Hypophysenvorderlappen nachzuweisen. Sie benutzten dazu ein gegen PROLACTIN sensibilisiertes Schafserum, welches Kaninchen injiziert wurde. Die mit Fluorescin versetzten Antikörper präzipitierten das endogene PROLACTIN in den azidophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens des Kaninchens. Diese Ergebnisse wurden unter anderem von PASTEELS 1963 sowie von EMMART, BATES und TURNER 1965 bestätigt.

Die Isolierung des Hormons hat der Forschung auf diesem Gebiet enorme Impulse gegeben. In einer kaum noch zu überblickenden Anzahl von Experimenten konnte die Rolle weitgehend aufgehellt werden, die PROLACTIN im Beziehungsnetz des endokrinen Systems spielt. Der gegenwärtige Wissensstand über Wirkungsweise und Wirkungsorte von PROLACTIN sei im Folgenden kurz zusammengefasst.

1.2. DIE WIRKUNG VON PROLACTIN AUF DIE MILCHDRÜSE

Seine wichtigste Funktion hat PROLACTIN an der Milchdrüse. Sowohl die Auslösung der Lactation als auch deren Voraussetzung, die Proliferation des Sekretionsgewebes, stehen zu einem wesentlichen Anteil unter dem Einfluß von PROLACTIN. In beiden Fällen lässt sich allerdings nur annähernd abgrenzen, mit welchem Gewicht das Hormon unter physiologischen Bedingungen an dem jeweiligen Prozess beteiligt ist; denn mit

Sicherheit kann Funktiom und Wachstum der Mamma nur als das Resultat des Zusammenwirkens mehrerer Hormone interpretiert werden, wobei die Wirksamkeit eines Hormons stets an das Vorhandensein " komplementärer " Hormone gebunden ist.

1.2.1. Die hormonelle Steuerung des Milchdrüsenwachstums vor der Pubertät und nach dem Einsetzen der vollen Ovarfunktion.

Vor der Pubertät kommt es an der Milchdrüse von Ratten nur zur Ausbildung eines mäßig ausgedehnten Gangsystems mit reichlichem Fett- und Bindegewebe (MYERS 1916, 1917, 1919, COWIE 1949, SILVER 1953 a), 1953 b), REECE 1958). Da das Wachstum bis zur Pubertät isometrisch verläuft, liegt die Vermutung nahe, daß bis zu diesem Zeitpunkt - wie für den übrigen Körper - STH das entscheidende Wachstumsstimulans für die Milchdrüse darstellt. Diese Annahme ist durch die umfangreichen Untersuchungen von LYONS und seinen Mitarbeitern (1958) als zutreffend bewiesen worden. LYONS konnte für Ratten zeigen,

- daß weder Östradiol, noch DCA (Desoxycorticosteronazetat), noch Prednisolonazetat alleine zur Ausbildung des präpubertalen Gangwachstums führen,
- daß STH einen direkt stimulierenden Effekt auf das Gangwachstum hat, jedoch eines " Comammogens " bedarf, um eine normale Entwicklung hervorzurufen.
- daß vor der Pubertät die Kombination : 2 mg STH, 1 Gamma Östradiol und 0,1 mg DCA pro Tag - , mit großer Wahrscheinlichkeit physiologischen Bedingungen entspricht.

Mit dem Einsetzen der vollen Funktion des Ovars kommt es zur Ausreifung zum fortpflanzungsfähigen Individuum. Die vermehrte Ausschüttung von Keimdrüsenhormonen führt auch zu einem grundlegenden Wandel in der endokrinen Steuerung des Milchdrüsenwachstums. Der beherrschende Einfluß des STH wird durch die Hormone Östradiol, Progesteron und PROLACTIN verdrängt. Gleichzeitig beginnt das Wachstum der Milchdrüse dem des übrigen Körpers davonzueilen (Allometrisches Wachstum) . (HUXLEY 1936, COWIE 1949, SILVER 1953 b., REECE 1958, MAYER und KLEIN 1960, COWIE und FOLLEY 1961, SINHA und TUCKER 1966).

Die Tubuli des Gangsystems beginnen sich vielfach zu verzweigen. Aus ihren Wänden sprossen Epithelverdichtungen hervor. Sie bilden das System der End- und Seitenknospen, die in der Schwangerschaft durch Lumenbildung zu Acini und schließlich zu Alveolen werden. Die Bindegewebssepten, welche die Milchdrüse in Lobuli unterteilen, dienen als Leitschienen des Wachstums.

Mit dieser heute allgemein gültigen Auffassung stimmt auch ein Teilergebnis der vorliegenden Arbeit überein. Eine hypophys- und gonadektomierte weibliche und männliche Kontrollgruppe zeigte nach 21 - tägiger Östrogenbehandlung lediglich eine Stimulierung des Gangwachstums. Gleichlautende Ergebnisse finden sich bei GARDNER 1940, LEONARD 1943, SMITHCORS und LEONARD 1943 sowie bei JACOBSOHN 1954.

Unter vielen anderen Autoren (SMELSER 1933, REECE, TURNER und HILL 1936, REECE und LEONARD 1939, 1941, 1942, REECE , BARTLETT und HATHAWAY 1940, REECE und BIVINS 1942, REECE und LEATHEM 1945, BENSON, COWIE, COX, FLUX und FOLLEY 1955, BENSON, COWIE, COX und

GOLDZWEIG 1957, HÖHN 1957, BENSON, COWIE, FOLLEY und TINDAL 1959, LYONS, LI und JOHNSON 1958) haben vor allem TRAURIG und MORGAN (1964 a., b.) an Mäusen nachweisen können,

- daß die Entwicklung des Gangsystems durch starke Proliferation des Epithels in erster Linie dem Einfluß der Östrogene unterliegt,
- daß die Differenzierung zum lobulo-alveolären Aufbau der Drüse hauptsächlich der Wirkung des Progesteron zuzuschreiben ist, und
- daß die Wirkungen beider Hormone sich nicht einfach nur addieren, sondern daß sowohl die proliferierenden wie auch die differenzierenden Prozesse beschleunigt werden, sobald beide Hormone zusammenwirken.

1.2.2. Die Abhängigkeit des Milchdrüsenaufbaus vom Zyklustyp.

Ausgehend von diesen spezifischen Wirkungen der Keimdrüsenhormone auf die Milchdrüse wird verständlich, warum wir, je nach Zyklustyp, verschiedene Stadien des Milchdrüsenaufbaus in den einzelnen Spezies finden. Bei langer Lutealphase, wie zum Beispiel beim Hund (MARSHALL und HALNAN 1917) kommt es schon während des normalen Zyklus zu fortgeschrittenem lobulo-alveolärem Aufbau der Drüse. Herrscht dagegen die Follikelphase vor mit sehr kurzer Lutealphase, wie etwa bei der Ratte oder der Maus, so entwickelt sich vorwiegend das Gangsystem. Nur wenn durch eine Schwangerschaft oder eine Pseudogravidität die Lutealphase verlängert ist, kommt es bei diesen Spezies zum vollen lobulo-alveolären Aufbau der Milchdrüse (FREYER und EVANS 1923, PARKES 1926, HAMMOND und MARSHALL 1930,

COLE 1933, TURNER und GOMEZ 1933, WEICHERT, BOYD und COHEN 1934, ASTWOOD, GESCHICKTER und RAUSCH 1937) .

1.2.3. Die Abhängigkeit des Milchdrüsenaufbaus von der Hypophyse und im besonderen von PROLACTIN.

Versuche an hypophysektomierten Ratten haben jedoch gezeigt, daß die Gonadenhormone keine oder nur eine sehr geringe Stimulierung des Milchdrüsenwachstums hervorrufen, wenn sie nicht mit dem hypophysären Hormonkomplex zusammenwirken. (LYONS und PENCHARZ 1936, REECE und TURNER 1936, GOMEZ und TURNER 1936, 1937, NATHANSON SHAW und FRANSEEN 1939, REECE und LEONARD 1941, GARDNER und WHITE 1941, 1942, LEONARD und REECE 1942, MIXNER und TURNER 1942, 1943, GOMEZ 1942, LYONS, SIMPSON und EVANS 1942, 1943, LYONS 1943, 1950, REECE und LEATHEM 1945, MAYER und KLEIN 1948, TRENTIN und TURNER 1948, HAHN und TURNER 1966). Gegenteilige Versuchsergebnisse (FREUD 1935, NELSON 1935, RUINEN 1932) sind vermutlich auf nicht ganz geglückte Operationen zurückzuführen (STEINBECK 1969), da bei unvollständig operierten Tieren schon kleinste Reste der Hypophyse genügen, um zusammen mit injizierten Ovarhormonen eine deutliche Milchdrüsenstimulierung zu verursachen. (GOMEZ und TURNER 1937, GOMEZ, TURNER und GARDNER 1937, REECE und LEONARD 1941, LEONARD und REECE 1942).

Das wichtigste hypophysäre Hormon des mammogenen Hormonkomplexes ist das PROLACTIN. Ein voller lobuloalveolärer Parenchymaufbau der Milchdrüse ist bei hypophysektomierten Ratten ohne PROLACTIN nicht zu erreichen. (REECE und LEONARD 1939, 1942, LYONS, SIMPSON und EVANS 1942, LYONS 1943, 1958, NELSON 1950, 1952, LYONS, LI und COLE 1953, LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958, FLUX 1958).

PROLACTIN zeigt an hypophysektomierten Ratten bei lokaler und systematischer Anwendung eine direkte mammogene Wirkung (LYONS, SIMPSON und EVANS 1941, GARDNER und WHITE 1941, LYONS 1942, MIZUNO, IIDA und NAITO 1955, FERGUSON 1956, LYONS, LI und JOHNSON 1956, MIZUNO und NAITO 1956, LYONS, JOHNSON und LI 1957). Dabei ist PROLACTIN in der Lage, sowohl das Gangwachstum als auch den lobulo-alveolären Aufbau der Drüse und ihre nachfolgende Sekretion zu stimulieren (MIZUNO, IIDA und NAITO 1955).

1.2.4. Die Beziehung zwischen Hypophyse und Plazenta während der Schwangerschaft.

Während des letzten Abschnitts der Schwangerschaft vermag die Plazenta den hypophysären Hormonkomplex nahezu vollständig zu ersetzen. Dies geht aus Versuchen hervor, in denen gravide Ratten hypophysektomiert wurden (LYONS 1944), oder der Hypophysektomie eine Plazenta - Transplantation folgte (LYONS 1950, 1958).

In beiden Fällen konnte bei den kastrierten Ratten die Milchdrüse durch eine Behandlung mit einer Kombination von Östrogen und Progesteron stimuliert werden. Bei nicht graviden bzw. nicht plazenta - transplantierten Ratten versagte diese Behandlung und führte zur Regression der Milchdrüse. Erst die zusätzliche Behandlung mit PROLACTIN vermochte die Regression aufzuhalten.

1.2.5. Weitere mammogene Hormone; Übersicht über den mammogenen Hormonkomplex.

Zu dem Fächer der mammogenen Substanzen zählen auch die Hormone der Nebennierenrinde. Wie oben schon

ausgeführt haben sie vor allem für das Milchdrüsenwachstum vor der Pubertät eine Bedeutung. LYONS und seine Mitarbeiter (1958) konnten jedoch nachweisen, daß für einen optimalen Aufbau der Milchdrüse auch nach der Pubertät Kortikoide in geringer Dosierung notwendig sind (COWIE und LYONS 1959).

Der gesamte mammogene Hormonkomplex besteht also aus mindestens fünf Hormonen (STEINBECK 1969), wobei PROLACTIN die dominierende Stellung einnimmt:

1. PROGESTERON
2. ÖSTRADIOL
3. PROLACTIN
4. STH (Somatotropes Hormon)
5. ACTH bzw. KORTIKOIDE

Daneben sind mammogene Wirkungen des INSULINS (AHREN 1959 a., b., AHREN und ETIENNE 1958, AHREN und JACOBSOHN 1956 a., b., JACOBSOHN 1958, KUMARESAN und TURNER 1965, 1967, KOZIOROWSKA 1962) und des THYROXINS (LYONS und CATCHPOLE 1933, MIXNER und TURNER 1942, SMITHCORS und LEONARD 1942, PETERSEN, KNODT und LUDWICK 1944, FLUX 1957, MOON 1962, BATES, MILLER und GARRISON 1962, KUMARESAN und TURNER 1965) sowie noch anderer Hormone festgestellt worden, die wahrscheinlich aber nur über eine allgemeine Beeinflußung des Stoffwechsels zustande gekommen sein dürften.

Einen ausgezeichneten Überblick über die hormonelle Steuerung des Milchdrüsenwachstums in den verschiedenen Entwicklungsphasen bietet das Schema nach LYONS, LI und JOHNSON (1958) auf der folgende Seite 10:

Schema der Hormonwirkungen in der Mammogenese und Laktogenese
Oben: Rudimentäre Milchdrüse des Neugeborenen.
Rechts: Präpuberale Milchdrüse.
Links: Laktierende Milchdrüse.
Unten: Schwangerschaftsmilchdrüse.

Abkürzungen: P Prolactin; C Corticoide;
E Oestrogene; Proges. Progesteron.

(Nach LYONS et al. 1958)

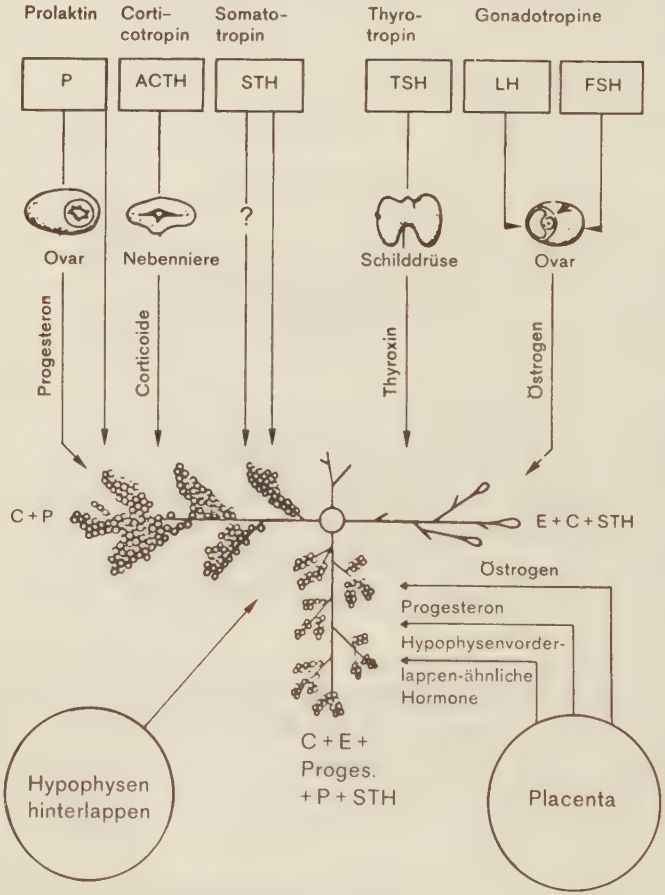


Abbildung 1

1.3. DIE WIRKUNG VON PROLACTIN AUF DEN GELBKÖRPER

Wie dem Schema auf Seite 10 zu entnehmen ist, besitzt PROLACTIN neben seiner direkten auch eine indirekte Wirkung auf den Funktionszustand der Milchdrüse. Sie kommt durch die luteotrope Aktivität des PROLACTINS zustande. (ASTWOOD 1941, DESCLIN 1952, EVERETT 1956, LYONS, LI und JOHNSON 1958, WOLTHUIS 1963 a., b., c., MEITES und NICOLL 1966). Das hierdurch vermehrt ausgeschüttete Progesteron stimuliert nun zusätzlich den Aufbau zur lactationsfähigen Milchdrüse.

1.4. DIE WIRKUNG VON PROLACTIN IM MÄNNLICHEN ORGANISMUS

Zahlreiche Untersucher befaßten sich mit der Frage, ob PROLACTIN auch im männlichen Organismus eine physiologische Rolle spielt. TULLNER (1963) und GRAYHACK (1963) berichten über eine Stimulierung des Prostata - Wachstums durch hohe Prolactindosen, während BENGMARK und HESSELSJO (1963, 1964) mit PROLACTIN - Injektionen das Wachstum der Samenblase in der Ratte anregen konnten. Auch die Präputialdrüsen reagierten auf PROLACTIN - Injektionen mit einer Wachstumsbeschleunigung (RENNELS, ANIGSTEIN D.M. und L.ANIGSTEIN 1961), sodaß ein physiologischer Einfluß des PROLACTINS auf die Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen im männlichen Organismus möglich erscheint. Diese Möglichkeit unterstreicht auch eine Beobachtung von HARAN - GHERA (1966), die bei der Verpflanzung eines Hypophysentumors, der in weiblichen Mäusen starkes Milchdrüsenwachstum und Milchsekretion auslöste, auf männliche Tiere desselben Stammes feststellte, daß an den Milchdrüsen keine Veränderungen auftraten, sich aber mächtige Samenblasen entwickelt hatten.

Trotz dieser Versuchsergebnisse muß eine physiologische Rolle des PROLACTINS im männlichen Organismus noch sehr in Frage gestellt werden, da bei allen genannten Experimenten sehr hohe Prolactindosen notwendig waren, um das Wachstum der akzessorischen Geschlechtsdrüsen zu stimulieren.

Gegen die Annahme einer physiologischen Rolle von PROLACTIN im männlichen Organismus spricht angesichts der erforderlichen hohen Dosierungen jedoch vor allem die durch zahlreiche Arbeiten belegte Entdeckung, daß in den Hypophysenvorderlappen der Männchen vieler untersuchter Säuger weitaus weniger PROLACTIN zu finden ist als bei den entsprechenden Weibchen (MEITES und TURNER 1950, MEITES und NICOLL 1966). So entwikkeln sich beispielsweise in Eierstöcken, die auf kastrierte männliche Mäuse verpflanzt wurden, höchstens ganz vereinzelt Gelbkörper. Sobald jedoch gleichzeitig PROLACTIN injiziert wird, bzw. die weibliche Hypophyse mitverpflanzt wird, beobachtet man die schnelle Ausreifung zahlreicher Gelbkörper, die über wechselnde Zeiträume erhalten bleiben (DESCLIN 1963, ZEILMARKER 1963, KURCZ, KOVACS, TIBOLDI und OROSZ 1967).

KURCZ et al. (1967) fanden in ihrer an Ratten durchgeführten Untersuchung in den Hypophysen der Männchen ziemlich genau die Hälfte des PROLACTINS, das normaler Weise bei Weibchen vorhanden ist.

Diese Versuchsergebnisse warfen natürlich die Frage auf, welchen Einfluß ANDROGENE auf das für die Prolactinausschüttung verantwortliche Regelzentrum haben, bzw. ob dieses Regelzentrum bereits im Zuge der Sexualdifferenzierung auf eine bestimmte Regel-

größe festgelegt wird. Bevor diese Frage, die auch die Fragestellung der vorliegenden Arbeit umreißt, beantwortet werden kann, ist es notwendig, zunächst die bekannten Fakten über den Regelkreis des PROLACTINS darzustellen.

1.5. DER REGELKREIS DES PROLACTINS

1.5.1. Die Hypothalamus - Hypophysen - Achse

Als Syntheseort des PROLACTINS ist eine Gruppe acidophiler Zellen im Hypophysenvorderlappen einwandfrei identifiziert worden (FARQUAR und RINEHART 1954, HYMER, McSHANN und CHRISTIANSEN 1961, BARNETT, ROTH und SALZER 1961, PURVES 1961, RENNELS 1962, GIROD 1962, 1964, BENOIT und DALAGE 1963, TIXIER - VIDAL 1963, OLIVEREAU 1963, DESCLIN 1963, BARNES 1963, EMMART, SPICER und BATES 1963, GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965).

Die hypophysäre Prolactinproduktion steht unter dem permanent hemmenden Einfluß eines übergeordneten Zentrums im Hypothalamus. Dieses Wirkungsprinzip des Hypothalamus, vermutlich ein Neurosekret, wurde deshalb " PROLACTIN - INHIBITING - FACTOR (PIF) " genannt. (McCANN und FRIEDMANN 1960, NICOLL und MEITES 1962, SAWYER, HANN, HILLARD, RADFORD und KANEMATSU 1963, WOLTHUIS 1963a., MEITES 1963, KANEMATSU, HILLARD und SAWYER 1963, KOBAYASHI, KOBAYASHI, KIGAWA, MIZUNO und AMENOMORI 1963, BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964, RAMIREZ und McCANN 1962, GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965, NIKITIVITCH- WINER 1965, BOWERS 1965, MISHKINSKY, LAJTOS und SULMAN 1966, ROBBOY und KAHN 1966, DeVOE, RAMIREZ und McCANN 1966, KUROSHIMA, ARIMURA, BOWERS und SCHALLY 1966, CHOWERS und McCANN 1967, SAR und

MEITES 1967, GROSVENOR, MENA, DHARIWAL und McCANN 1968, ARIMURA, SAITO, MÜLLER, BOWERS, SAWANO und SCHALLY 1967, DHARIWAL, GROSVENOR, RODRIGUES und McCANN 1968. SAR und MEITES 1968) .

Der PIF steht in auffallendem Gegensatz zu der Beziehung zwischen Hypothalamus und allen übrigen Hormonen des Hypophysenvorderlappens, die sämtlichst durch positive Stimuli (Releaser - Faktoren) des Hypothalamus von der Hypophyse ausgeschüttet werden (FLERKO und SZENTAGOTHAI 1957, McCANN und Friedmann 1960, ROTHCHILD und DICKEY 1960, SAWYER, HANN, HILLARD, RADFORD und KANEMATSU 1963, KOBAYASHI, KOBAYASHI, KIGAWA, MIZUNO und AMENOMORI 1963, MITTLER und MEITES 1964, MINAGUCHI und MEITES 1967).

1.5.2. Die Beeinflußung des PIF durch verschiedene Steroidhormone und exogene Reize.

Zahlreiche Substanzen sind inzwischen in ihren Wirkungen auf den PIF bei der Ratte untersucht worden. Dabei stellte sich heraus, daß vor allem das ovarielle Östradiol den PIF im Hypothalamus hemmt und damit die PROLACTIN-Sekretion des Hypophysenvorderlappens stimuliert, sodaß sich über den PIF eine positive feed - back - Beziehung zwischen Ostradiol und PROLACTIN ergibt (MEITES und TURNER 1942, EVERETT 1956, 1964, KANEMATSU und SAWYER 1963, WOLTHUIS und DeJONGH 1963, RATNER, TALWALKER und MEITES 1963, WOLTHUIS 1963 c., BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964, RATNER und MEITES 1964, TALWALKER, MEITES und MIZUNO 1964, RAMIREZ und McCANN 1964, NICOLL und MEITES 1962, 1964, MEITES und NICOLL 1966, TUCKER, PAAPE und SINHA 1967, CHOWERS und McCANN 1967, SAR und MEITES 1967, MINAGUCHI, CLEMENS und MEITES 1968) .

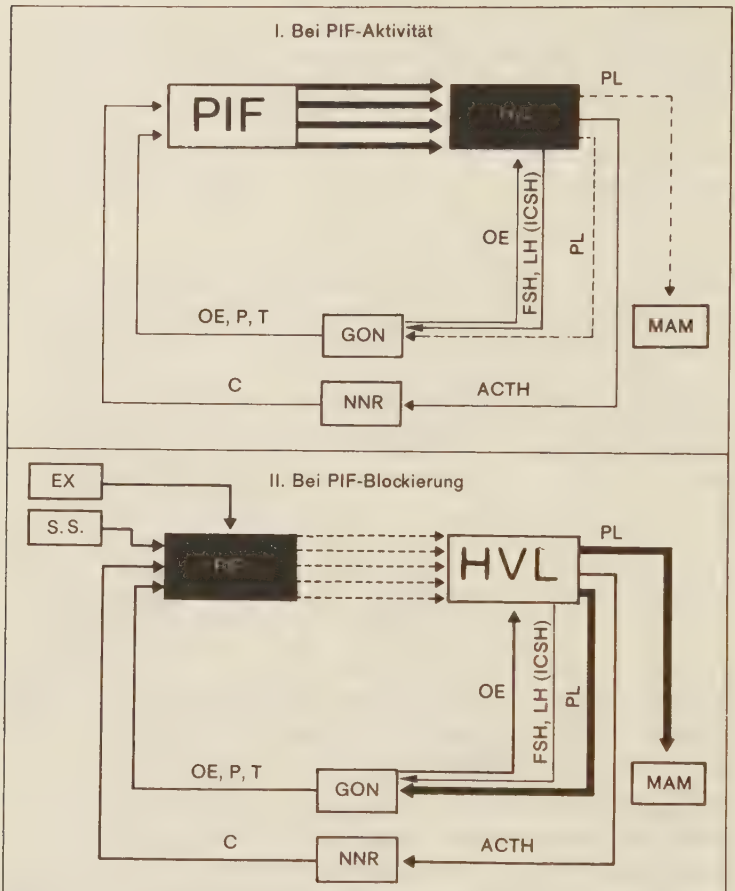
Dieser positive feed - back existiert auch ohne Zwischenschaltung des Hypothalamus durch einen direkten Angriff des Östrogens auf die Hypophyse, was durch in-vitro-Versuche demonstriert werden konnte (MEITES und NICOLL 1966, KANEMATSU und SAWYER 1963). Der Mechanismus dieser ungewöhnlichen Direktwirkung ist noch nicht bekannt.

Unter physiologischen Bedingungen ist jedoch sicherlich der Hypothalamus das Hauptregulationszentrum der PROLACTIN - Sekretion. In den vielen Experimenten, die sich seither um eine bessere Aufklärung des PIF bemüht haben, konnte für folgende Substanzen ein positiver feed-back zu PROLACTIN durch Reduzierung des PIF - Gehalts im Hypothalamus festgestellt werden:

- Progesteron (ROTHCHILD und DICKEY 1960, WOLTHUIS 1963 c., WOLTHUIS und DeJONGH 1963, ROTHCHILD 1965, SAR und MEITES 1968)
- Kortikoide (BENDAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964, SULMAN, BENDAVID, DANON, DIKSTEIN, KHAZAN und MISHKINSKY, ZOR 1963/64, TUCKER, PAAPE und SINHA 1967, SAR und MEITES 1968)
- Testosteron (FOLLEY 1952, WOLTHUIS 1963 c., AHREN und ETIENNE 1959, KAHN und BAKER 1966, CHOWERS und McCANN 1967, SAR und MEITES 1968)

Darüberhinaus haben der Saugreiz (ROTHCHILD 1960, RATNER und MEITES 1964, GROSVENOR, MENA und SCHAEFGEN 1967, MINAGUCHI und MEITES 1967, TUCKER, PAAPE und SINHA 1967), die künstliche Cervix-Stimulierung (HERLYN, GELLER, v.BERSWORDT-WALLRABE, v.BERSWORDT-WALLRABE 1965, KUROSHIMA, ARIMURA, BOWERS und SCHALLY 1966) sowie verschiedene exteroceptive Reize (GROSVENOR 1965 a., b., ROTH und ROSENBLATT 1966, GROSVENOR, MENA, DHARIWAL und McCANN 1967, PIACSEK und MEITES 1967) - wie beispielsweise die unmittelbare Nähe von Neugeborenen - eine Verminderung des PIF im Hypothalamus zur Folge.

PIF-Schema



PIF	= Prolactin-Inhibiting-Factor
HVL	= Hypophysenvorderlappen
GON	= Gonaden
NNR	= Nebennierenrinde
MAM	= Mamma
EX	= Exteroception
S.S.	= Sexuelle Stimulierung, Saugreiz
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
LH (ICSH)	Luteinisierungs-Hormon (zwischenzellstimulierendes Hormon)
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
PL	= Prolactin
OE	= Östrogen
P	= Progesteron
T	= Testosteron
C	= Corticoide

Abbildung 2

Eine Übersicht der experimentell gesicherten, hemmenden Einflüsse auf den PIF bietet das Schema der Abb.2 auf der vorhergehenden Seite. Hierbei muß allerdings betont werden, daß es sich um Ergebnisse von zum Teil in-vitro-Versuchen handelt, die keineswegs die physiologische Situation widerspiegeln, weder beim Menschen noch bei der Ratte. So weiß man beispielsweise vom Progesteron, daß es zwar in einem positiven feed-back zum PROLACTIN steht, auf der anderen Seite aber die stimulierende Wirkung des Östrogens auf die PROLACTIN - Sekretion aufzuheben in der Lage ist und die Milchdrüse während der Schwangerschaft gegen den stimulierenden Einfluß von PROLACTIN refraktär hält (MEITES und SGOURIS 1953, 1954, MEITES 1954, STEINBECK 1969). Erst wenn mit dem Geburtstermin der Progesteronspiegel stark sinkt, fallen diese beiden Schranken der Laktationsauslösung. Befriedigende Erklärungen der hier zu Grunde liegenden Wirkungsmechanismen stehen noch aus.

6. DIE SEXUALDIFFERENZIERUNG HYPOTHALAMISCHER ZENTREN

Widersprüchlich erscheint auch die in dem Schema auf Seite 16 angegebene hemmende Wirkung des Testosteron auf den PIF. Soll es sich hier um einen physiologischen Einfluß handeln, so bleibt unverständlich, warum in den bislang untersuchten männlichen Individuen verschiedener Säugerspezies nur halb so viel PROLACTIN zu finden ist wie bei den entsprechenden Weibchen. (MEITES und TURNER 1950, MEITES und NICOLL 1966, KURCZ, KOVACS, TIBOLDI und GROSZ 1967).

Tatsächlich gelang es bisher auch nur bei intakten oder ovarektomierten weiblichen Ratten, den PIF - Gehalt des Hypothalamus mit Androgenen zu reduzieren,

bzw. die hypophysäre PROLACTIN - Sekretion zu erhöhen (FLUX 1954, WOLTHUIS 1963 c., KAHN, BAKER und ZANOTTI 1965, KAHN und BAKER 1966, SAR und MEITES 1968). In männlichen Tieren versagte der Versuch, die Milchdrüse mit Testosteronprpionat via Hypothalamus - Hypophyse zu stimulieren (SRIVASTANA und TURNER 1966). Und zwar versagten beim Männchen nicht nur die Androgene, sondern auch die Östrogene, die beim Weibchen den PIF weitaus am wirksamsten blockieren können (JACOBSOHN und NORGREN 1965).

Auf dem Boden dieser Versuchsergebnisse sind - ähnlich wie für das Progesteron - Theorien formuliert worden, die in bestimmten Dosisrelationen einen Wirkungsantagonismus zwischen Östrogenen und Androgenen annehmen (JACOBSOHN 1962 a., b., JACOBSOHN und NORGREN 1965).

Vieles spricht jedoch eher für die oben angedeutete Auffassung, daß bereits im Zuge der Sexualdifferenzierung die PIF - produzierenden Kerngebiete des Hypothalamus auf einen bestimmten Reaktionstypus " programmiert " werden, indem möglicher Weise die Empfindlichkeit entsprechender Rezeptoren auf Östrogene oder Androgene gesenkt wird. So ist bei neonatal virilisierten weiblichen Ratten der milchdrüsenstimulierende Effekt von Östradiol und Progesteron um 33% abgeschwächt gegenüber gleichbehandelten nicht virilisierten Tieren (KUMARESAN und TURNER 1966). An dieser Stelle sei auch noch einmal an die Arbeit von KURCZ et al. (1967) erinnert, der in den Hypophysen von männlichen Ratten nur halb so viel PROLACTIN fand, wie bei weiblichen Tieren. Wenn er aber weibliche Ratten sofort nach der Geburt mit Testosteronpropionat behandelte, war später der Prolactingehalt der Hypophyse im Bereich der " männlichen " Werte.

Den Ergebnissen dieser Arbeiten zufolge käme den festalen und den im Neugeborenen gebildeten Androgenen der prägende Einfluß auf den Hypothalamus zu, der darüber entscheidet, ob die PROLACTIN - Sekretion nach einem männlichen oder einem weiblichen Typus erfolgt. Die Bestätigung dieser Hypothese stünde in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von zahlreichen Experimenten, in denen einwandfrei nachgewiesen werden konnte, daß es allein vom Einfluß der Androgene abhängt, ob sich die Kerngebiete des Hypothalamus, die für die Steuerung der Sexualfunktionen zuständig sind, zum männlichen oder zum weiblichen Typus differenzieren. (EVERETT, SAWYER und MARKEE 1949, BARRACLOUGH und LEATHEM 1954, BARRACLOUGH 1961, BARRACLOUGH und GORSKI 1961, 1962, HARRIS und LEVINE 1962, GORSKI und BARRACLOUGH 1963, HARRIS 1964, 1963, EVERETT 1964, DÖRNER und DÖCKE 1964, SWANSON, VAN DER WERFF TEN BOSCH 1964, GORSKI und WAGNER 1965, KINCL, FOLCH PI, MAQUEO, LASSO, ORIOL und DORFMAN 1965, NEUMANN und ELGER 1965, NEUMANN, ELGER und v.BERSWORDT-WALLRABE 1967, NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967).

Werden in genetisch männlichen Ratten während dieser Differenzierungszeit, nämlich in den ersten 14 Lebenstagen (BARRACLOUGH und GORSKI 1962, HARRIS und LEVINE 1962, HARRIS 1963, 1964, GORSKI und WAGNER 1965), die körpereigenen Androgene durch Kastration oder Antiandrogene ausgeschaltet, so beginnen diese Tiere im Erwachsenenalter nach Ovarimplantation zu ovulieren (PFEIFFER 1936, BARRACLOUGH 1961, TAKEWAKI 1962, HARRIS 1963, 1964, GORSKI und WAGNER 1965, NEUMANN und ELGER 1965, NEUMANN, ELGER und v.BERSWORDT-WALLrabe 1967, NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967) und ein weibliches Deckverhalten zu zeigen (HARRIS 1964, YOUNG, GOY und PHOENIX 1964, NEUMANN und ELGER 1965, NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967) .

Umgekehrt zeigen weibliche Ratten, die in den ersten Lebenstagen mit Testosteronpropionat behandelt wurden, später kein Östrus - Verhalten mehr (PHOENIX, GOY, GERALL und YOUNG 1959, HARRIS und LEVINE 1962, BARRACLOUGH und GORSKI 1962, LEVINE und MULLINS JR. 1964, YOUNG, GOY und PHOENIX 1964, HARRIS 1964).

Man muß also annehmen, daß beide Geschlechter Zentren sowohl für den männlichen als auch für den weiblichen Verhaltenstyp besitzen. Ein Zentrum ist dominant und besitzt eine Affinität zum homologen Sexualhormon (BEACH 1952). Erfolgt eine dem genetischen und gonadalen Geschlecht entgegengesetzte Differenzierung, so entspricht das Sexualverhalten nicht mehr dem genetischen Geschlecht. Die Differenzierung des Hypothalamus scheint jedoch grundsätzlich im Sinne des weiblichen, zyklischen Funktionstyps zu verlaufen, denn nur bei Einwirken des Testosterons - im männlichen Organismus der Normalfall, im weiblichen Organismus etwa bei einzelnen Fällen des Adrenogenitalen Syndroms (AGS) - erfolgt die Prägung des Hypothalamus zum azyklischen männlichen Funktionstyp.

Auch in der Organogenese des Geschlechtsapparates sind wichtige Differenzierungsprozesse dem Diktat der Androgene unterworfen. Durch intrauterine Kastration (JOST 1946, 1947, RAYNAUD und FRILLEY 1947, 1949) sowie durch Behandlung gravider Tiere mit Antiandrogenen (MOORE und PRICE 1942, JOST und BERGERARD 1949, JOST und BOZIC 1951, HAMADA, NEUMANN und JUNKMANN 1963, NEUMANN und HAMADA 1963, NEUMANN und KRAMER 1964, KRAMER, NEUMANN und ELGER 1965, ELGER 1966, NEUMANN, ELGER und KRAMER 1966, NEUMANN, ELGER, v.BERSWORDT-WALLRABE und KRAMER 1966, NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967) konnte klargestellt werden, daß die Androgene des männlichen

Feten notwendig sind,

- zur Ausbildung der männlichen ableitenden Geschlechtswege,
- zur Differenzierung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen,
- zur Differenzierung des männlichen äußeren Genitales, sowie
- zur Verhinderung der Ausbildung einer Vagina bei männlichen Tieren.

Außerdem stellte man fest, daß sich die Anlagen der Milchdrüse weiblich differenzieren, sofern die Androgene im männlichen Feten blockiert werden (RAYNAUD und FRILLEY 1949, RAYNAUD 1961, NEUMANN und ELGER 1966, ELGER und NEUMANN 1966, NEUMANN, ELGER und v.BERSWORDT-WALLRABE 1966, NEUMANN und ELGER 1967).

1.7. PROBLEMSTELLUNG DES EXPERIMENTS

Angesichts der genannten, vor allem durch die umfangreichen Antiandrogen - Untersuchungen von NEUMANN, ELGER und Mitarbeitern gesicherten Entdeckungen über die Rolle der Androgene sowohl für die sexuelle Organogenese als auch für die Differenzierung der Sexualzentren im Hypothalamus, liegt es nahe, auch für das PIF - Zentrum eine Androgenabhängigkeit der Differenzierung anzunehmen.

Eine solche Abhängigkeit muß besonders dann als wahrscheinlich gelten, wenn wir uns noch einmal die wichtigsten Befunde der zuvor zitierten Untersucher vergegenwärtigen:

- Die Entwicklung von Corpora Lutea in Ovartransplantaten bei männlichen Ratten, sobald die weibliche Hypophyse mitverpflanzt oder PROLACTIN gespritzt worden war (DESCLIN 1963, ZEILMARKER 1963). Ohne weibliche Hypophyse, bzw. PROLACTIN waren Gelbkörper ausgeblieben.

- Die Hypophysenvorderlappen vieler untersuchter männlicher Säuger enthalten weitaus weniger PROLACTIN als die entsprechenden Weibchen (MEITES und NICOLL 1963).

- Die Senkung der weiblichen PROLACTIN - Sekretion auf die männliche Norm, sobald die Weibchen neonatal virilisiert worden waren (KURCZ, KOVACS, TIBOLDI und OROSZ 1967).

- Die stark eingeschränkte Reaktion der Milchdrüse auf Wachstumsstimuli bei neonatal virilisierten Weibchen (KUMARESAN und TURNER 1966).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, in einem Experiment mit feminisierten Ratten die Richtigkeit der These zu erhärten, die dem Testosteron auch für die Differenzierung des PIF - Zentrums die entscheidende Rolle zuweist. Hierfür war eine Versuchsanordnung erforderlich, in der nach gezieltem Angriff auf den PIF die Prolactinsekretion bei weiblichen Ratten verglichen werden kann mit derjenigen von gleichbehandelten Männchen, und zwar einerseits Männchen, deren Hypothalamus-Differenzierung normal unter dem Einfluß von Androgenen erfolgte und andererseits Männchen, bei welchen die Androgene während der Differenzierungsphase experimentell ausgeschaltet worden waren, sogenannten " feminisierten " Männchen.

II. MATERIAL UND METHODEN

2.1. TIERMATERIAL UND BEHANDLUNG

Die Untersuchung wurde an männlichen und weiblichen SRAGUE-DAWLEY-Ratten durchgeführt. Erwachsene weibliche Ratten wurden während Pro-Oestrus mit den Böcken zusammengebracht. Fanden sich am folgenden Tag Spermien im Abstrich der Weibchen, so wurde dieser als der erste Tag der Schwangerschaft gerechnet.

Die trächtigen Weibchen erhielten eine Antiandrogen-Behandlung. Begonnen wurde mit der Behandlung am 13. Tag der Schwangerschaft und damit vor dem Zeitpunkt der somatischen Sexualdifferenzierung der Foeten; sie wurde durchgeführt bis zum 22.Tag der Schwangerschaft einschließlich.

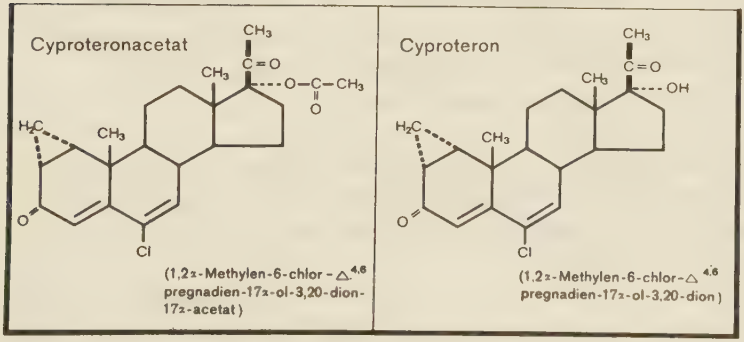


Abbildung 3

Die Substanz, das CYPROTERONAZETAT • (Formel siehe Abb.3) wurde in einer öligen Lösung von Benzylbenzoat und Rizinusöl (Verhältnis 1 : 5) verabfolgt, und zwar 20 mg CYPROTERONAZETAT gelöst in 0,5 ml. Lösungsmittel pro die. Die Applikation des Lösungsmittels oder der darin gelösten Substanz erfolgte durch Injektion in das subcutane Gewebe des Rückens.

Um auszuschließen, daß das Lösungsmittel selbst Einfluß auf die Differenzierung des Genitaltraktes hat, verabfolgten wir einer trächtigen Ratte über denselben Zeitraum lediglich das Lösungsmittel. Da die Untersuchung der Neugeborenen dieses Muttertieres keine fassbaren Abweichungen von der Norm ergab, konnte das Lösungsmittel als Ursache möglicher Einwirkungen ausgeschlossen werden.

Die männlichen Neugeborenen der mit CYPROTERONAZETAT behandelten Muttertiere erhielten in ihren ersten 10 Lebenstagen, d.h. zur Zeit der Differenzierung der Sexualzentren im Hypothalamus, weiterhin CYPROTERONAZETAT - Injektionen und zwar 1 mg CYPROTERONAZETAT gelöst in 0,05 ml Benzylbenzoat - Rizinusöl - Gemisch pro die subcutan in den Nacken. Die Antiandrogenbehandlung war damit abgeschlossen.

Die Tiere aller 7 Versuchsgruppen wurden bei einem Gewicht von rund 40 g gonadektomiert. Der volle Erfolg dieser Operationen wurde bei der Tötung der Tiere stets nachgeprüft.

• Die Verbindung wurde von Dr. WIECHERT, SCHERING AG, Berlin, synthetisiert.

Die eigentliche Behandlung erfolgte in dem Experiment bei einem Gewicht der Ratten von ca 200 g. Sie bestand in einer täglichen Östradiol-Injektion in das subcutane Gewebe des Rückens. Es wurden 21 Tage lang je 10 Gamma Östradiol in 0,2 ml Sesamöl gelöst injiziert. Einer weiblichen und einer männlichen Kontrollgruppe wurde lediglich das Lösungsmittel injiziert. Ziel der Östradiol-Therapie war die Stimulierung der PROLACTIN - Sekretion vermittels einer Unterdrückung des PIF im vorderen Hypothalamus. Am Tag nach der letzten Östradiolinjektion wurden die Tiere getötet und präpariert.

2.2. EINTEILUNG DER GRUPPEN

Gruppeneinteilung

Gruppe	Geschlecht	Anzahl	Behandlung
1	♂	5	GE
2	♀	5	GE
3	♂	10	GE, OE
4	♀	10	GE, OE
5	♂	10	GE, FEM, OE
6	♂	5	GE, HE, OE
7	♀	5	GE, HE, OE

GE = Gonadektomie
OE = 10 µ Östradiol 21 Tage lang sc.
FEM = Prä- und postnatal mit Cyproteronacetat feminisiert
HE = Hypophysektomie

Abbildung 4

Die Einteilung der Gruppen ergibt sich aus Abb.4 . Die Kontrollgruppen 6 und 7 wurden einen Tag vor Beginn der Östrogenbehandlung hypophysektomiert. Der volle Erfolg der Hypophysektomie wurde jeweils bei der Tötung der Tiere kotrolliert. Der Vergleich der hypophysektomierten Gruppen mit den östradiolbehandelten Gruppen gestattet eine Abgrenzung des reinen Östrogeneffektes an der Milchdrüse von dem kombinierten Effekt, den das Östradiol zusammen mit hypophysären Faktoren auf die Mamma ausübt. Die Kontrollgruppen 1 und 2 wurden überhaupt nicht mit Östrogen behandelt. Diesen Gruppen wurde lediglich das Lösungsmittel injiziert. Sie bilden deshalb die Grundlage bei der Beurteilung der Milchdrüsenentwicklung der Gruppen 3 bis 7.

2.3. PRÄPARATION DER MILCHDRÜSEN

Am Tage nach der letzten Östradiolinjektion wurden alle Tiere mit Äther getötet und sofort präpariert. Entsprechend der dreifachen Auswertung der Milchdrüsenentwicklung wurden 3 Partien der Milchleisten eines Tieres abpräpariert und getrennt weiterbehandelt:
(Siehe Abb.5 auf der folgenden Seite)

1. Die abdominal - inguinalen Drüsen rechts für die " WHOLE MOUNT PREPARATION "
2. Ein Teil der pektoralen Drüsen rechts für die Histologie
3. Die abdominal - inguinalen Drüsen links für die DNS - Bestimmung

Skizze für die Präparation der Milchleisten

Schema einer Ratte von ventral, in der schematisch die 2 Milchleisten mit ihren Drüsenbezirken eingezeichnet sind.

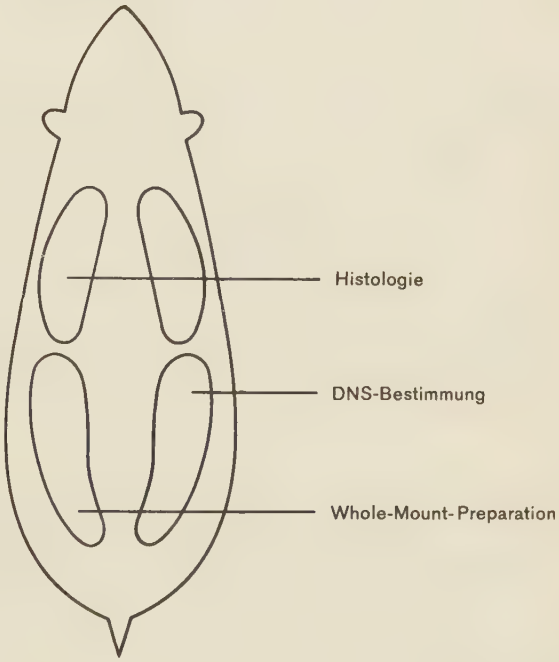


Abbildung 5

2.3.1. WHOLE MOUNT PREPARATION

Die WHOLE MOUNT PREPARATION (HADFIELD und YOUNG 1950; LYONS und JOHNSON 1952) ist eine grob - morphologische Methode, bei der die Milchdrüsenentwicklung makroskopisch beurteilt wird. Sie ist geeignet für Spezies mit flachen Milchdrüsen, so z.B. bei der Ratte, Maus oder dem Kaninchen. Die Ausdehnung des Gangsystems, sowie die Anzahl der Knospen und Alveolen können ungefähr bestimmt werden.

Technik: Die Haut des Drüsenbezirkes wird mit dem darunterliegenden Bindegewebe vom Tierkörper abgetrennt und 24 Stunden im BOUIN ' schen Gemisch fixiert. Der Drüsenkörper wird anschließend von der Haut abgezogen und von eventuell noch anhaftenden Muskelfasern gereinigt. Einer mehrtägigen Spülung in 50 %-igem Alkohol folgt dann die Färbung mit Alaun-Karmesin. Der überflüssige Farbstoff wird in mehreren Spülungen mit 70%igem Alkohol entfernt. Abschließend wird das Präparat in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und für mehrere Tage in Xylol eingelegt.

Nach dieser Behandlung wurde der präparierte Drüsenkörper insgesamt photographiert. Einzelne Ausschnitte wurden zur besseren Beurteilung der Feinstruktur in einer Vergrößerung photographisch festgehalten.

2.3.2. HISTOLOGIE

Von der pektoralen Drüse rechts wurde ein etwa 1 cm^2 großer Bezirk reseziert und in BOUIN ' schem Gemisch fixiert. Einer nachfolgenden Spülung in Alkohol schloß

sich die Färbung des Präparats mit Hämatoxilin - Eosin an. Das gefärbte Präparat wurde dann in Paraffin (56°C) eingebettet und in Serienschnitten für die mikroskopische Untersuchung aufgearbeitet.

2.3.3. DNS - BESTIMMUNG

Die DNS - Bestimmung der Mamma erfolgte zusätzlich zur WHOLE MOUNT PREPARATION und Histologie, um die " subjektive " Methode der WHOLE MOUNT PREPARATION durch eine objektive Methode zu kontrollieren. Die Grundlagen der DNS - Bestimmung sind die Untersuchungen von KIRKHAM und TURNER (1953), sowie von MIRSKY und RIS (1949), denen zufolge der DNS - Gehalt eines bestimmten Organs seiner Zellzahl direkt proportional ist; weiterhin die Arbeit von HARKNESS und HARKNESS (1956), die feststellten, daß sich der Kollagengehalt einer im Aufbau befindlichen Milchdrüse kaum verändert, so daß der Fehler durch Bindegewebszellen in allen Gruppen etwa gleich ist. Das Ansteigen des DNS - Gehaltes der Milchdrüse zeigt demnach in der Aufbauphase stets eine Parenchymproliferation an.

Technik: (GRIFFITH und TURNER 1961, MOON, GRIFFITH und TURNER 1959, WEBB und LEVY 1954, SCHNEIDER 1945) Unmittelbar nach der Abtrennung vom Tierkörper wurden die Drüsen (adomino - inguinale Drüsen rechts) in Trockeneis gelegt und für eine Woche bei -18°C tief gefroren. Dieser Behandlung schloß sich die Fett- und Wasserextraktion an: In 96%igem Alkohol/Benzol und in Äther wurden die Drüsen je 4 Stunden lang gekocht. Der Pulverisierung des verbleibenden Trockenmaterials in einer Mühle folgte dann die DNS-Bestimmung der einzelnen Versuchsgruppen nach der Methode von WEBB und LEVY.

Dabei wird die DNS mit P - Nitro - Phenyl - Hydrazin angefärbt und kalorimetrisch bestimmt. Eine Standard-Lösung diente als Vergleichslösung (in unserem Falle erhielten wir die DNS für die Standard-Lösung von der Firma SCHUCHARDT, München: DE 055), d.h. drei verschiedene Konzentrationen sowohl des Standards wie auch der Versuchsgruppen wurden miteinander verglichen. Alle Ergebnisse wurden elektronisch auf Linearität der Dosiswirkungskurven, auf Homogenität der Streuungen und auf Parallelität der beiden Dosiswirkungskurven berechnet wie auch der Präzisionsindex und die Titerberechnung. In einem entsprechenden Rechnungsgang wurde dann der DNS - Gehalt pro durchschnittliches Drüsengewicht einer Gruppe ermittelt.

2.4. HYPOPHYSENGEWICHTE

Um einen Anhaltspunkt für das Verhältnis zwischen zentraler Aktivität und Wirkung am Erfolgsorgan zu haben, wurden bei der Tötung der Tiere die Hypophysengewichte erfasst, und zwar als Ausdruck der zentralen Stimulierung der PROLACTIN-Sekretion.

III. E R G E B N I S S E

3.1. WHOLE MOUNT PREPARATION *

Gruppe 1 : Männliche, kastrierte, unbehandelte Kontrollen

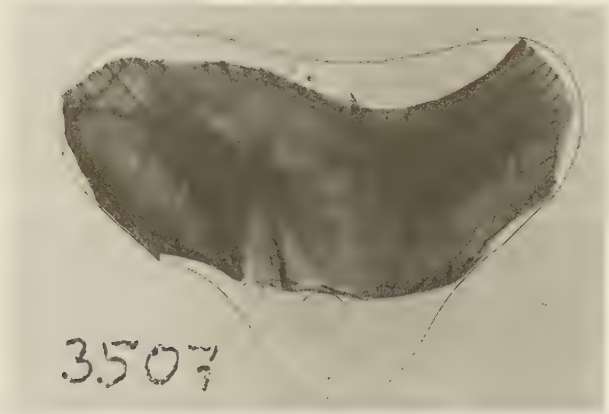
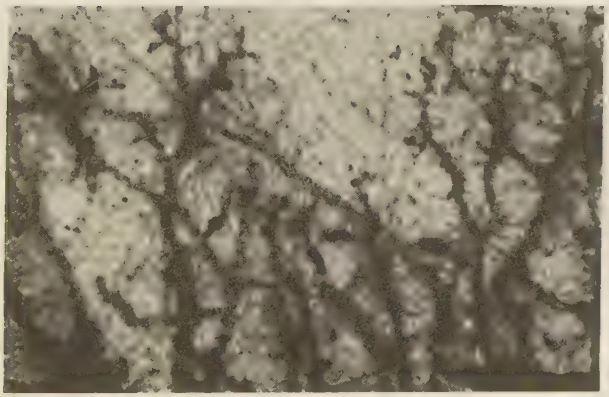


Abb. 6



(Vergrößerter Ausschnitt)
Abb. 7

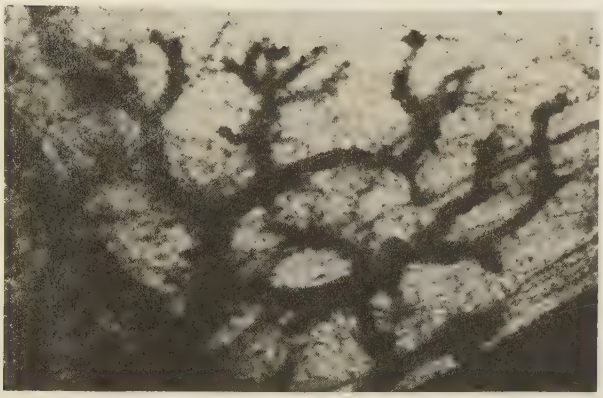
* Für die Abbildungen der WHOLE MOUNT PREPARATION wie auch der Histologie wurden aus den einzelnen Gruppen jeweils repräsentative Beispiele ausgewählt.

Der gesamte in Abb. 6 gezeigte Milchdrüsenabschnitt ist in 2 Bezirke aufgeteilt, die nicht miteinander kommunizieren. Die Bezirke selbst zeigen nur eine mäßige Ausdehnung mit recht grobmaschigem Aufbau, der die aufgelockerte Verzweigungsstruktur der Drüse ausdrückt. Nur ganz vereinzelt sind Andeutungen von Knospen zu sehen. Acini oder Alveolen sind nicht vorhanden (Siehe besonders die Vergrößerung in Abb.7). Insgesamt hat man den Eindruck eines in seiner Entwicklung stehengebliebenen Organs, da die einzelnen Drüsen des abdomino-inguinalen Milchdrüsenabschnitts noch nicht zu einem durchgängigen Drüsenkomplex verschmolzen sind, und die einem Nippel zugehörigen Drüsensprosse zentral zwa ziemlich dicht verzweigt sind, peripher jedoch nur geringe Verzweigungen aufweisen.

Gruppe 2 : Weibliche, kastrierte, unbehandelte Kontrollen

Abbildung 8

Abb. 9



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 9)
Abb. 10

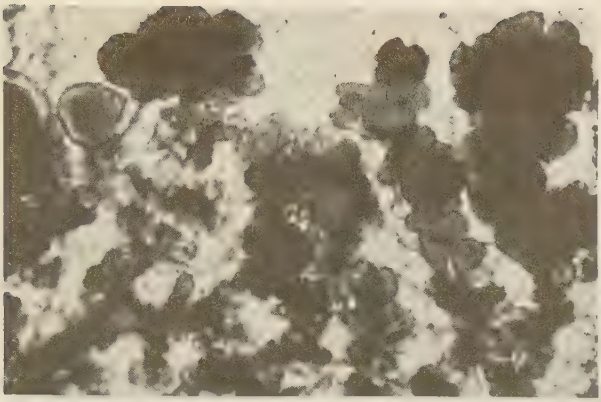
Bei der weiblichen Kontrollgruppe bietet sich ein ähnliches Bild, obwohl - wie der Abb.9 zu entnehmen ist - einzelne Tiere dieser Gruppe bereits einen zusammenhängenden Drüsenkörper entwickelt haben, sowie eine weitaus lebhaftere Verzweigung, der jedoch Seit- oder Endknospen im wesentlichen fehlen (Siehe den vergrößerten Ausschnitt auf Abb.10). Acini oder Alveolen sind ebenfalls nicht ausgebildet.

Gruppe 3 : Mit Östradiol behandelte, kastrierte, männliche Kontrollen

Abb. 11

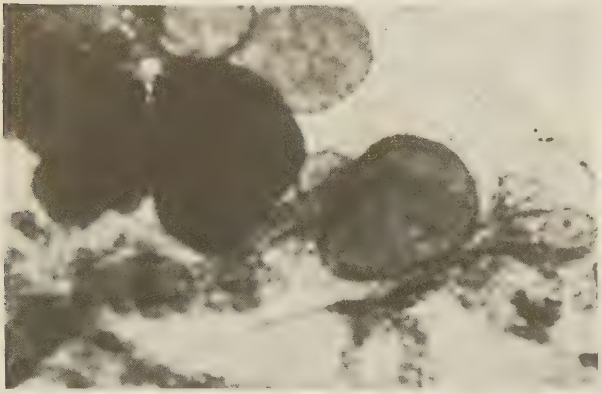
Abb. 12

Die mit Östradiol behandelte, männliche Kontrollgruppe zeigt eine deutliche Stimulierung des Milchdrüsenwachstums. Die Ausführungsgänge sind von dichten Trauben des Sekretionsgewebes umgeben (Abb.13). Besonders peripher sind Acini zuweilen ballonförmig zu Alveolen aufgetrieben,



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 12)

Abb. 13



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 12)

Abb. 14

die offensichtlich mit Sekret gefüllt sind (Abb.14). Trotz dieser deutlichen Aktivität des Sekretionsgewebes zeigen die Drüsen immer noch eine mäßge Ausdehnung und Dichte, vergleicht man sie mit der folgenden östradiol-behandelten weiblichen Kontrollgruppe. Das Flächenwachstum der Drüsen scheint nicht in demselben Ausmaß stimuliert worden zu sein wie das Sekretionsgewebe. So sind beispielsweise in Abb.11 die einem Nippel zugehörigen Drüsenabschnitte gerade erst miteinander verschmolzen.

Gruppe 4 : Mit Östradiol behandelte, kastrierte, weibliche Kontrollen

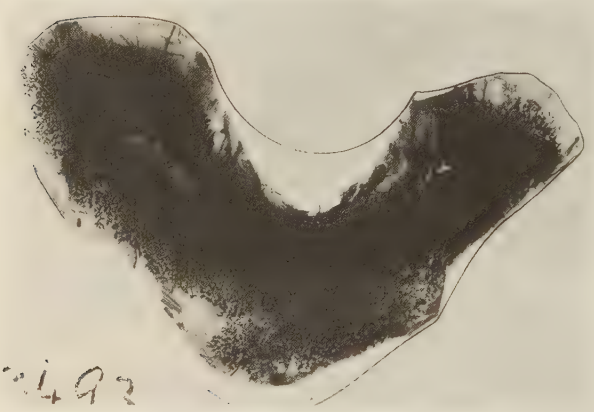


Abb. 15

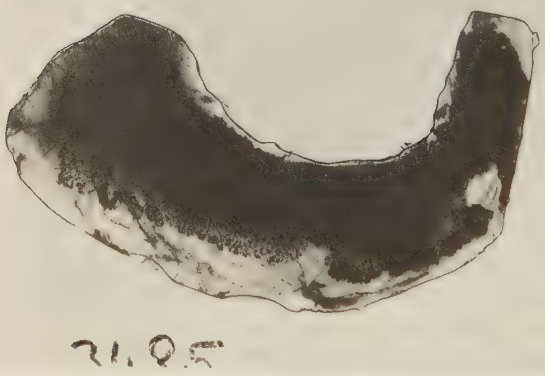
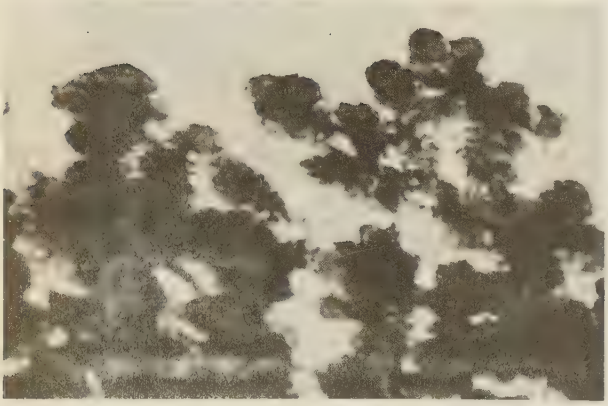


Abb. 16

Die Milchdrüsen der weiblichen Kontrollgruppe, die 21 Tage lang mit Östradiol behandelt wurde, bieten schließlich das Bild von hinsichtlich ihrer Ausdehnung und Dichte mächtigen Drüsen, deren lobulo-alveoläres Wachstum voll entwickelt ist.



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 16)

Abb. 17

(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 16)

Abb. 18

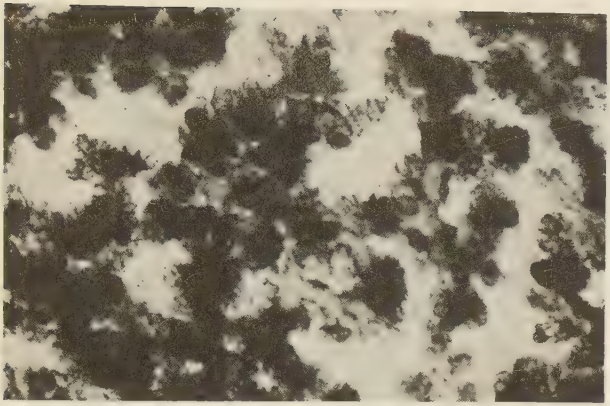
Die einem Nippel zugehörenden Drüsenabschnitte lassen sich nicht mehr voneinander unterscheiden. In den vergrößerten Ausschnitten der Abb.16 wird wiederum deutlich, wie sich die Acini in dichten Trauben um die Ausführungsgänge drängen und durch Sekretfüllung zu Alveolen aufgetrieben sind.

Gruppe 5 : Mit Östradiol behandelte, feminisierte Männchen

Abb. 19

Abb. 20

Ein der Gruppe 4 (Behandelte weibliche Kontrollen) nahezu identisches Bild zeigt die Versuchsgruppe der feminisierten Böcke : Mächtige Ausdehnung der Drüse, völlige Verschmelzung der einzelnen zu einem Nippel



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 19)

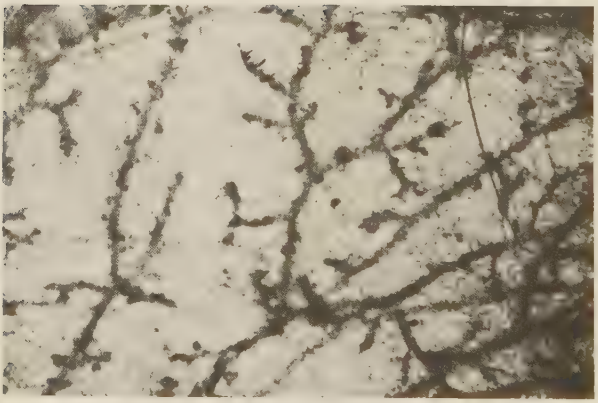
Abb. 21

gehörenden Drüsenbezirke, dichte sekretgefüllte Trauben - besonders in den kaudalen Drüsenabschnitten -, insgesamt lobulo-alveolär voll aufgebaute Drüsen. Deutlich heben sich die Gruppen 4 und 5 (Behandelte weibliche Kontrollen, behandelte feminisierte Böcke) von den behandelten männlichen Kontrollen der Gruppe 3 ab.

Gruppen 6 und 7: Mit Östradiol behandelte, kastrierte und hypophysektomierte, männliche und weibliche Kontrollen

Im Gegensatz zu den vorangegangenen Gruppen beobachtet man bei den hypophysektomierten Tieren der Gruppen 6 und 7 den reinen Östrogeneffekt an der Milchdrüse: Die Drüsen zeigen eine geringe Ausdehnung, aber ein dichtes Flechtwerk des Gangsystems. Das Gangwachstum ist deutlich stimuliert, wohingegen Anzeichen für eine Stimulierung des Sekretionsgewebes völlig fehlen. Es sind weder End- noch Seitensprosse ausgebildet. Insgesamt erreichen die weiblichen Tiere (Abb.22 und 23) eine etwas größere Drüsenausdehnung als die Männchen (Abb.24 und 25).

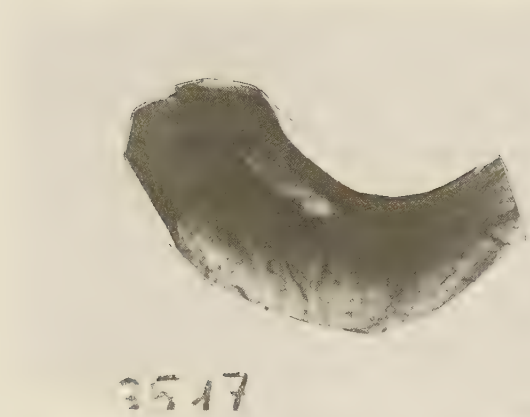
Abb. 22



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 22)

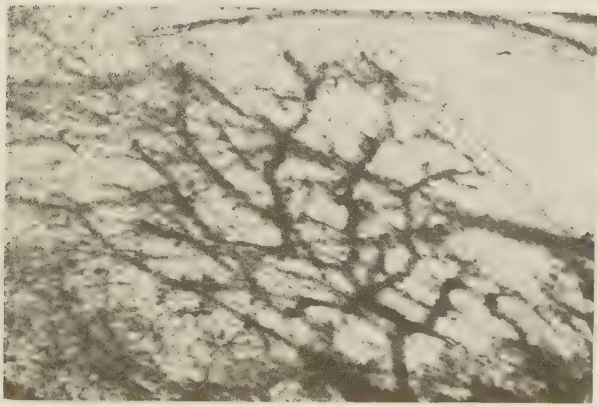
Abb. 23

Abbildungen von Drüsen aus der Gruppe 7 (Mit Östradiol behandelte, kastrierte und hypophysektomierte weibliche Kontrollen).



3517

Abb. 24



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 24)

Abb. 25

Abbildungen von Drüsen aus der Gruppe 6 (Mit Östradiol behandelte, kastrierte und hypophysektomierte männliche Kontrollen).

3.2. HISTOLOGIE *

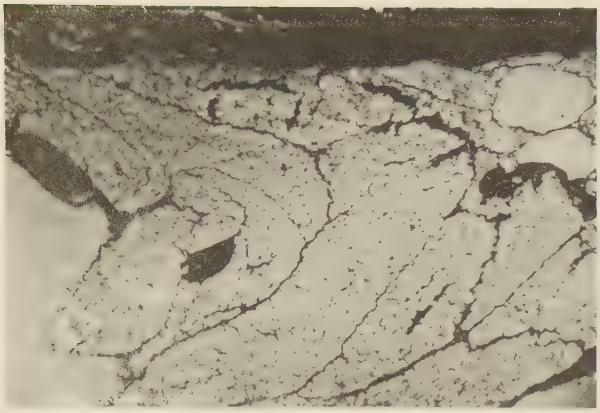
Deutlicher als bei der WHOLE MOUNT PREPARATION kommen durch die histologische Auswertung die qualitativen Unterschiede des Drüsenaufbaus zum Ausdruck. Diese Unterschiede sind von deutlicher Signifikanz, und zwar in Abhängigkeit von der jeweiligen Behandlung.

Gruppen 1 und 2 : Männliche und weibliche kastrierte unbehandelte Kontrollen

(Gruppe 1: Unbehandelte männliche Kontrollen)
Abb. 26

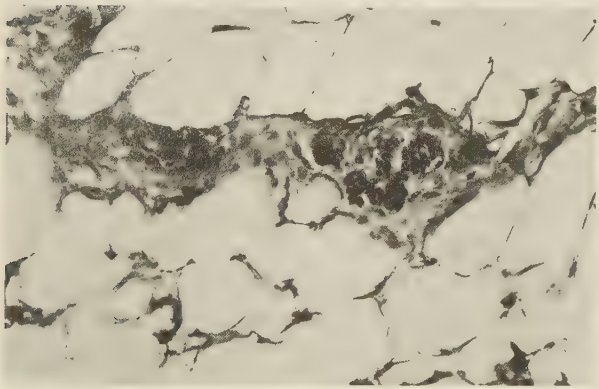
Die Tiere der Gruppen 1 und 2, die kastriert wurden, aber sonst keinerlei Behandlung erfuhren, bieten histologisch das Bild inaktiver Drüsen. Das Bild wird beherrscht durch ein stark entwickeltes Fettgewebe, durchzogen von einzelnen Bindegewebssepten (Abb.27). Die

* Um einen Vergleich zwischen der Whole Mount Preparation und der Histologie zu ermöglichen, sind für die Illustration der histologischen Auswertung die Drüsen derselben Tiere herangezogen worden, die auch schon in den Abbildungen der Whole Mount Preparation zu sehen waren.



(Gruppe 2: Unbehandelte weibliche Kontrollen)

Abb. 27



(Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 27)

Abb. 28

Bindegewebssepten enthalten vereinzelt Ausführungsgänge, die teilweise noch ein Lumen besitzen (Abb.26) oder aber nur noch aus Epithelzellsträngen bestehen (Abb.28). Merkmale einer Stimulierung des Drüsengewebes fehlen völlig.

Gruppe 3 : Mit Östradiol behandelte, kastrierte, männliche Kontrollen

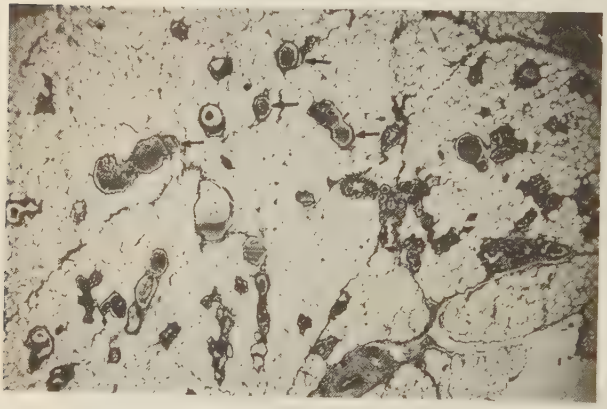
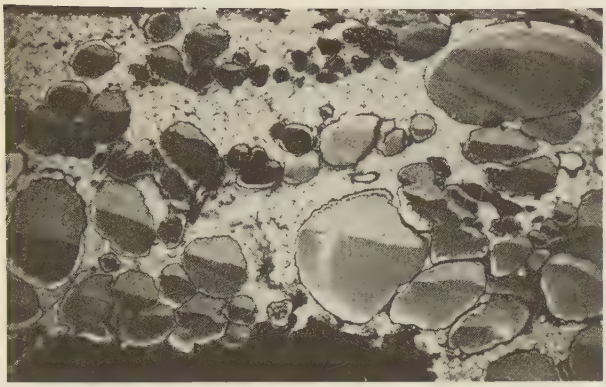


Abb. 29

In dieser männlichen Kontrollgruppe sind deutlich die Auswirkungen der Östradiolbehandlung zu erkennen: Das Fettgewebe ist in seiner Masse durch Parenchym verdrängt worden. Neben einzelnen Ausführungsgängen fallen besonders die traubenförmigen Ansammlungen von Acini ins Auge sowie sekretgefüllte Alveolen. In einzelnen Alveolen sehen wir klar erkennbare Anzeichen aktiver apokriner Sekretion (⟶).

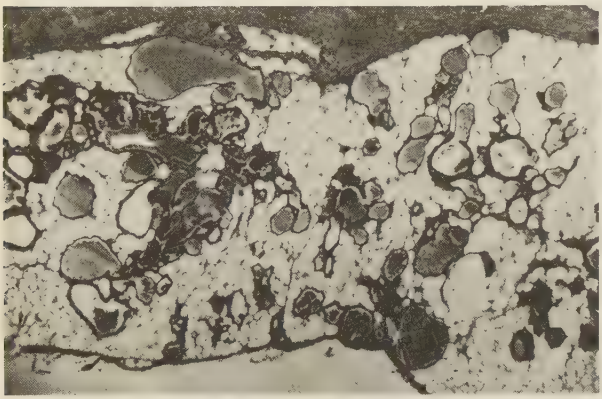
Gruppen 4 und 5 : Mit Östradiol behandelte, kastrierte, weibliche Kontrollen und feminisierte Männchen

Bei der weiblichen behandelten Kontrollgruppe und bei der eigentlichen Versuchsgruppe, den feminisierten Böcken, zeigt sich wiederum das Bild voll stimulierter Milchdrüsen: Der Anteil des Fettgewebes am Drüsenaufbau ist etwa auf ein Drittel zurückgegangen. Große Alveolen beherrschen das Bild. Sie sind mit Sekret prall angefüllt



(Gruppe 4: Behandelte weibliche Kontrollen)

Abb. 30



(Gruppe 5: Behandelte feminisierte Männchen)

Abb. 31

und grenzen größtenteils unmittelbar aneinander. Die Abbildung 32 zeigt in der Vergrößerung eine Traube von Alveolen, die zu einem Hauptausführungsgang hin konfluieren. Eine dieser Alveolen zeigt der noch einmal vergrößerte Ausschnitt in Abbildung 33. In diesem Bild kann die voll in Gang befindliche apokrine Sekretion beobachtet werden (⟶).

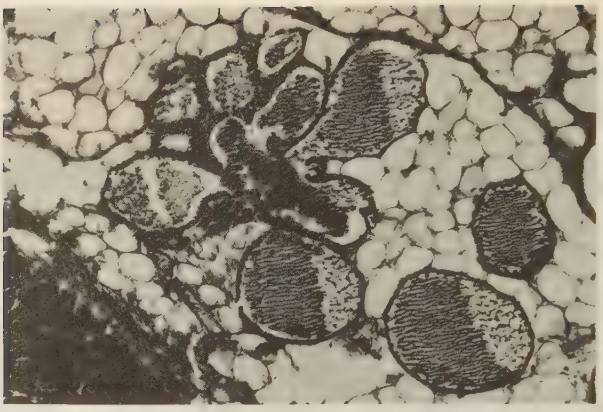


Abb. 32 (Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 30)

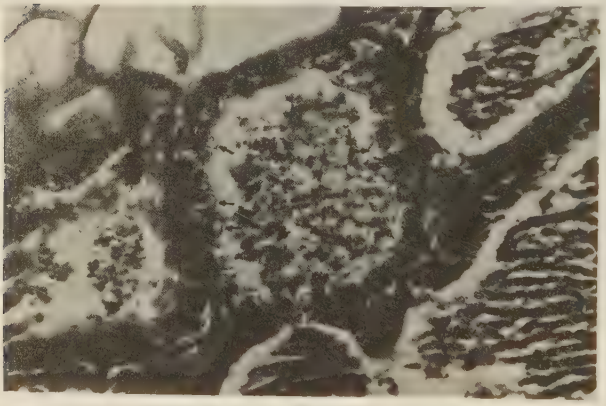
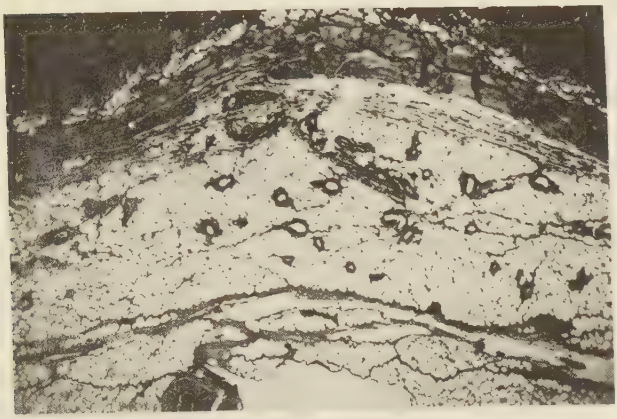


Abb. 33 (Vergrößerter Ausschnitt der Abb. 32, bzw. 30)

Gruppen 6 und 7 : Mit Östradiol behandelte, kastrierte und hypophysektomierte, männliche und weibliche Kontrollen



(Gruppe 6: Behandelte hypophysekt. männliche Kontrollen)

Abb. 34

(Gruppe 7: Behandelte hypophysekt. weibliche Kontrollen)

Abb. 35

Durch die Hypophysektomie war in diesen Gruppen der hypophysäre Hormonkomplex ausgeschaltet. Das applizierte Östradiol konnte also nur seine direkte Wirkung auf die Brustdrüse entfalten. Entsprechend finden wir - wie durch die WHOLE MOUNT PREPARATION bereits dargestellt -

eine ausschließliche Stimulierung des Gangwachstums. Anzeichen einer Parenchymstimulierung, also Acini oder Alveolen, fehlen völlig. Das starke Überwiegen des Fett- und Bindegewebes gibt den Bildern wiederum ihre Prägung. Bemerkenswert ist der Unterschied zu den Abbildungen 26 und 27 der Gruppen 1 und 2 (Unbehandelte männliche und weibliche Kontrollen), in denen zwar auch das Fett- und Bindegewebe den Bildern den Stempel aufdrückte, das jedoch infolge einer Involution, ohne ein selektives Überwiegen des Gangsystems am Gesamtaufbau der Milchdrüse.

3.3. DNS - BESTIMMUNG

DNS-Gehalt der Brustdrüsen

Gruppe	Behandlung	Zahl der Tiere	Körpergewicht (g)	DFFT / Drüse (mg)	DFFT / 100 g KG (mg)	DNS / Drüse (µg)	DNS / DFFT (µg) (mg)
1	♂ GE	5	262,0	128,2	48,93	446,7 · 25,1	3,48 ± 0,19
2	♀ GE	5	253,0	124,0	49,01	430,9 · 32,5	3,48 ± 0,26
3	♂ GE · OE	10	275,4	141,3	51,31	494,1 · 23,6	3,48 ± 0,17
4	♀ GE · OE	10	241,5	199,0	82,40	693,0 · 25,6	3,48 ± 0,12
5	♂ GE, FEM, OE	10	268,7	206,0	76,67	715,6 · 33,4	3,47 ± 0,16
6	♂ GE, HE, OE	5	194,6	84,8	43,58	310,8 · 22,7	3,67 ± 0,26
7	♀ GE, HE, OE	5	169,5	73,5	43,36	294,0 · 18,9	4,00 ± 0,25

Mittlerer Fehler berechnet nach der Formel $s_x = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{n-1}} \Big/ \sqrt{n}$

GE = Gonadektomie
OE = 10µ Östradiol 21 Tage lang sc.
FEM = Prä- und postnatal mit Cyproteronacetat feminisiert
HE = Hypophysektomie
DFFT = Dry fat free tissue

Abbildung 36

Die Abbildungen 36 und 37 bestätigen eindrucksvoll unsere Befunde der WHOLE MOUNT PREPARATION und der HISTOLOGIE. Die unbehandelten Kontrollgruppen 1 und 2 weisen keine signifikanten Unterschiede auf. Der DNS-Gehalt der Milch-

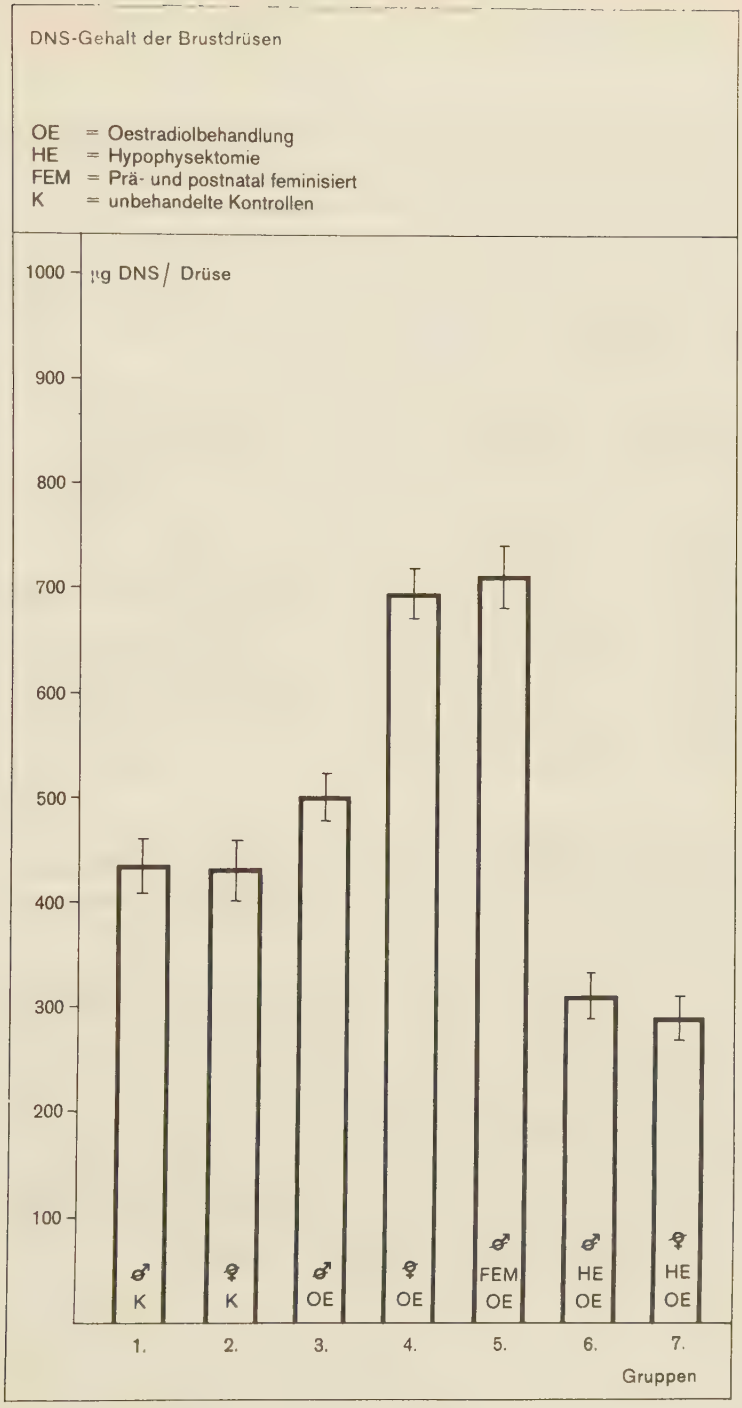


Abbildung 37

drüsen dieser Tiere bewegt sich mit Werten von 446,7 (Gr.1) und 430,9 (Gr.2) Mikrogramm pro Drüse etwa zwischen denjenigen der östradiolbehandelten hypophysektomierten Kontrollgruppen 6 und 7 (310,8 und 294,0 Mikrogramm pro Drüse) sowie der ebenfalls mit Östradiol behandelten männlichen Kontrollgruppe 3 (494,1 Mikrogramm pro Drüse).

Der Unterschied zwischen den mit Östradiol behandelten kastrierten Männchen (Gr.3) einerseits und den östradiolbehandelten kastrierten Weibchen (Gr.4) bzw. den feminisierten Böcken andererseits kommt durch die DNS - Bestimmung deutlicher zum Ausdruck, als das die photographischen Aufnahmen der Whole Mount Preparation oder der Histologie leisten konnten. Den entsprechenden Werten zufolge (494,1 gegenüber 693,0 bzw. 715,6 Mikrogramm pro Drüse) hatten also die östradiolbehandelten kastrierten Weibchen 40% und die feminisierten Böcke sogar 45% mehr Drüsengewebe entwickelt als die mit Östradiol behandelten kastrierten Männchen.

Wichtig für das Verständnis des Angriffspunktes der beobachteten Östrogenwirkungen ist der Unterschied zwischen den östradiolbehandelten gonadektomierten Tieren (Gruppen 3,4 und 5) und den Gruppen, die zusätzlich hypophysektomiert wurden (Gruppen6 und 7). Ohne die Vermittlung hypophysärer Faktoren - die wiederum vom ZNS kontrolliert werden - können Östrogene kein echtes Drüsenwachstum stimulieren. Die Werte der hypophysektomierten Gruppen sind zwar auch als Ergebnis einer Stimulierung des Drüsengewebes aufzufassen, allerdings, wie wir gesehen haben, ausschließlich des Gangwachstums und damit sind sie qualitativ etwas anderes als die in den Gruppen 3,4 und 5 beobachtete Stimulierung, d.h. mit diesen ohnehin nicht vergleichbar.

3.4. HYPOPHYSENGEWICHTE

Hypophysengewichte

Gruppe	Behandlung	Zahl	Körpergewicht (g)	Hypophysengewicht (mg)	Hypophysengewicht pro 100 g Körpergewicht (mg)
1	♂ GE	5	262,0	11,2 ± 0,80	4,28 ± 0,30
2	♀ GE	5	253,0	10,6 ± 0,45	4,19 ± 0,18
3	♂ GE, OE	10	275,4	17,1 ± 1,12	6,21 ± 0,49
4	♀ GE, OE	10	241,5	19,7 ± 1,13	8,16 ± 0,46
5	♂ GE, FEM, OE	10	268,7	23,3 ± 0,63	8,67 ± 0,23

Mittlerer Fehler berechnet nach der Formel $s_x = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{\frac{n-1}{\ln}}}$

GE = Gonadektomie
OE = Östradiolbehandlung
FEM = prä- und postnatal feminisiert

Abbildung 38

Betrachtet man die Ergebnisse der Bestimmung der Hypophysengewichte, so bietet sich ein der Situation am Erfolgsorgan analoges Bild:

Die unbehandelten kastrierten Kontrollgruppen 1 und 2 differieren kaum und weisen mit Werten von 4,28 und 4,19 (mg Hypophysengewicht pro 100 g Körpergewicht) die niedrigsten Gewichte auf. Die Gruppe mit den nächst höheren Werten ist wieder die der östradiolbehandelten kastrierten männlichen Kontrollen mit einem Durchschnittsgewicht von 6,21 (mg Hypophysengewicht pro 100 g Körpergewicht).

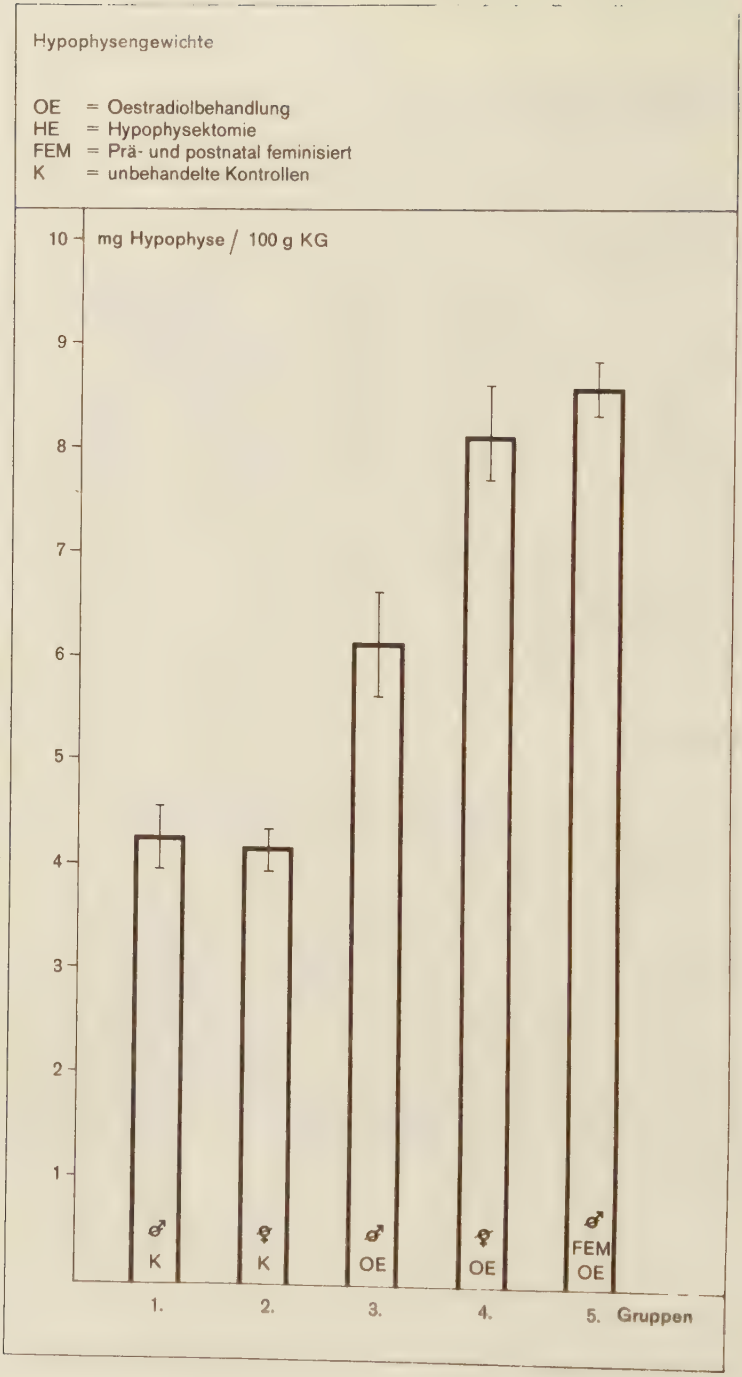


Abbildung 39

Die weiblichen mit Östradiol behandelten, kastrierten Kontrollen (8,16 mg) und die feminisierten Böcke (8,67 mg) erreichen die höchsten Werte, die nur geringfügig voneinander abweichen. Die Gruppe 3 (östradiolbehandelte, kastrierte, männliche Kontrollen) liegt dabei wieder ungefähr in der Mitte zwischen den unbehandelten kastrierten Kontrollen und den Gruppen 4 und 5 (östradiolbehandelte, kastrierte Weibchen und feminisierte Böcke). Anschaulich gehen diese Ergebnisse aus der Graphik der Abbildung 39 hervor.

IV. D I S K U S S I O N

4.1. DIE BIOLOGISCHE BEDEUTUNG VON PROLACTIN

4.1.1. Luteotrope Funktion

PROLACTIN hat bei der Ratte in der Schwangerschaft die Funktion, die corpora lutea zu erhalten. Das PROLACTIN der Schwangerschaft stammt in den ersten 12 Tagen aus der Hypophyse (ELGER 1969); später übernimmt die Plazenta die Produktion von PROLACTIN. Eine Hypophysektomie führt dann nicht mehr zum Abbruch der Schwangerschaft (ASTWOOD 1941, AVERILL, RAY und LYONS 1950).

4.1.2. Mammotrope Funktion

Neben seiner luteotropen Funktion besitzt das PROLACTIN Eigenschaften, die es zum wichtigsten mammotropen Faktor machen. Vorbereitung und Unterhaltung der Laktation werden ganz wesentlich durch das PROLACTIN gesteuert. So ist ein voller lobulo-alveolärer Parenchymaufbau der Milchdrüse ohne PROLACTIN nicht zu erreichen (LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958).

4.2. DAS REGULATIONSPRINZIP

4.2.1. Kein geschlossener Regelkreis

Entscheidend für die Regulierung der PROLACTIN - Sekretion ist das Vorhandensein, bzw. die Abwesenheit eines hypothalamischen Faktors, des sogenannten PROLACTIN - INHIBITING - FACTOR (PIF), der die PROLACTIN - Sekretion des Hypophysenvorderlappens hemmt.

Eine Senkung des PIF führt entsprechend zu einem Anstieg der PROLACTIN - Sekretion im Hypophysenvorderlappen. Bei einer vollständigen Trennung des Hypophysenvorderlappens vom Einfluß des Hypothalamus - etwa bei einer explantierten Hypophyse - findet man im Hypophysenvorderlappen eine überschießende PROLACTIN - Sekretion (EVERETT 1954, 1956).

Die PIF - Sekretion im Hypothalamus wird nun nicht durch das periphere Hormon gesteuert - wie etwa die gonadotropen Hormone FSH,LH durch ihre peripheren Hormone Östrogen, Progesteron -, sondern durch eine Reihe prolactinunabhängiger Faktoren, die in der Abbildung 2 schematisch dargestellt sind.

4.2.2. PIF - regulierende Faktoren

Zu Beginn der Schwangerschaft ist es eine Reizung der Cervix durch den Coitus, die eine zeitlich begrenzte PIF - Senkung im Hypothalamus und damit eine PROLACTIN - Sekretion hervorruft. Diese Phase dauert etwa 12 Tage. Für die Erhaltung der corpora lutea nach diesem Termin sorgt plazentares PROLACTIN bis zur Geburt. Die PROLACTIN - Sekretion aus dem Hypophysenvorderlappen nach der Geburt wird nach bisheriger Anschauung durch die Anwesenheit von Jungen, d.h. des Saugreizes stimuliert, sowie durch das plötzliche Absinken des Progesteronspiegels: Damit entfällt der hemmende Einfluß, den das Progesteron auf die prolactinstimulierende Wirkung des Östradiols ausübt (MEITES 1954, STEINBECK 1969).

Von großer Bedeutung ist aber weiterhin die Wirkung anderer peripherer Hormone, die wir bei der weiblichen Ratte beobachten können. So haben die Nebennieren - Glucocorticoide und vor allen anderen das Östradiol eine deutliche PIF-Senkung bzw. Prolactinstimulierung zur Folge.

4.3. AUFGABENSTELLUNG DER ARBEIT

Viele Autoren (BARRACLOUGH 1961, NEUMANN, ELGER, v.BERSWORDT-WALLRABE und KRAMER 1966, und viele andere) haben bisher durch ihre Untersuchungen feststellen können, daß die geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Ausschüttung von FSH und LH auf Prägungsvorgänge zurückzuführen sind, die in der prä- und postnatalen Periode auf hypothalamische Zentren ausgeübt werden. Verantwortlich für diese Prägungsvorgänge sind die fetalen und neonatalen Androgene. Die vorliegende Arbeit hatte es sich zur Aufgabe gemacht, den Beweis dafür zu erbringen, daß auch die geschlechtsspezifischen Unterschiede der PROLACTIN - Ausschüttung dem prägenden Einfluß der fetalen und neonatalen Androgene auf das hypothalamische PIF - Zentrum zuzuschreiben sind.

4.4. BEGRÜNDUNG DES VERSUCHSMODELLS

Als Erfolgsorgan von PROLACTIN haben die weibliche und die männliche Ratte nur die Milchdrüse gemeinsam. Aus diesem Grunde bildeten die Untersuchungen der Milchdrüse das Fundament des Experiments.

Die Auslösung der PROLACTIN - Sekretion war in beiden Geschlechtern optimal nur durch Östradiol möglich, da beim männlichen Tier eine Stimulierung durch Cervix - Reizung oder durch Saugreiz nicht durchzuführen ist. Östradiol war deshalb in unserem Experiment der adäquate Reiz für eine PIF - Senkung bzw. PROLACTIN - Sekretion.

Dieses Vorgehen war möglich, da - wie erwiesen werden konnte -

- ohne eine Östrogenstimulierung bei weiblichen und

männlichen Katraten praktisch eine identische Entwicklung der Milchdrüse (Atrophie) erfolgt (siehe Versuchsgruppen 1 und 2 : Kastrierte, unbehandelte, männliche und weibliche Kontrollen).

- ohne ein intaktes hypophysär-hypothalamisches System auch unter dem Einfluß von Östrogenen keine geschlechtsspezifische Reaktion der Milchdrüse zu beobachten ist, sondern in beiden Geschlechtern nur eine gleichmäßige Stimulierung des Gangwachstums stattfindet. Östrogene selbst sind also nicht geschlechtsgebunden mammotrop (siehe Versuchsgruppen 6 und 7 : Östradiolbehandelte, hypophysektomierte Kastraten).

Als entscheidende Größe haben wir infolgedessen die Antwort des hypophysären mammogenen Hormonkomplexes auf eine Östrogenstimulierung gemessen und zwar bei weiblichen und männlichen Kastraten und bei feminisierten männlichen Kastraten. Dabei wurden folgende Methoden angewandt:

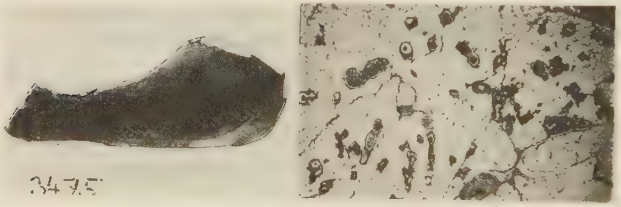
1. WHOLE MOUNT PREPARATION	- Größe der Drüsen
2. HISTOLOGIE	- Qualität des Drüsenaufbaus
3. DNS - BESTIMMUNG	- Quantität der Drüsenzellen
4. HYPOPHYSENGEWICHTE	- Zentrale Aktivität

4.5. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Es konnte erwiesen werden, daß Östrogene nur bei intakter Verbindungsachse zwischen Hypothalamus und Hypophyse mammotrope Wirkungen entfalten. Dies ergibt sich widerspruchsfrei aus allen gemessenen Größen, die in den Abbildungen 40 und 41 übersichtlich zusammengestellt sind. Wichtig für die Fragestellung der Arbeit ist die Feststellung einer eindeutigen geschlechtsspezifischen Reaktion auf allen Ebenen (Hypophyse und Milchdrüse). Demnach kann es als gesichert angesehen werden, daß bei der männlichen Ratte auf den gleichen Stimulus nicht so viel mammotrope Hormone im Hypophysenvorderlappen gebildet werden können wie beim weiblichen Tier.

Gruppe 1 : Unbehandelte, kastrierte, männliche Kontrollen
Gruppe 2 : Unbehandelte, kastrierte, weibliche Kontrollen

Gruppe 3 : Ostradiolbehandelte, männliche Kastraten



Gruppe 4 : Östradiolbehandelte, weibliche Kastraten
Gruppe 5 : Östradiolbehandelte, feminisierte Böcke

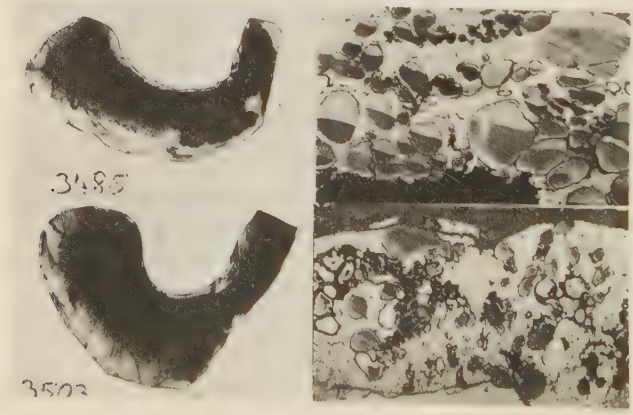
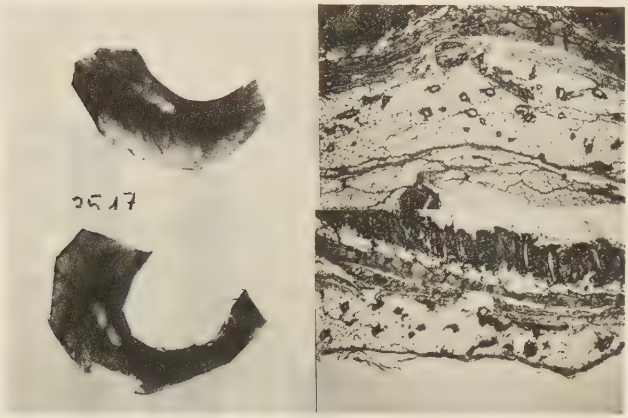


Abbildung 40

Gruppe 6 : Östradiolbehandelte, hypophysektomierte, kastrierte, männliche Kontrollen
Gruppe 7 : Östradiolbehandelte, hypophysektomierte. kastrierte, weibliche Kontrollen



Da bei männlichen Individuen durch die Ausschaltung der Androgene in der prä- und postnatalen Phase (13.-22. Tag der Schwangerschaft und 1.-10. Tag nach der Geburt) mit Antiandrogenen später ein " weiblicher " Reaktionstyp resultiert, kann zudem geschlossen werden, daß die Androgene des fetalen bzw. neonatalen Hodens den späteren männlichen Reaktionstyp determinieren. Ohne die Einwirkung von Androgenen wird unabhängig vom genetischen oder gonadalen Geschlecht die vorgefundene weibliche Reaktionsweise programmiert.

Die Ergebnisse der Versuche lassen den Schluß zu, daß der in den Experimenten gemessene mammogene Hormonkomplex im wesentlichen identisch ist mit PROLACTIN.

Bekanntlich gehören aber auch das STH und das ACTH (via Nebennierenrindenhormone) zu dem mammogenen Hormonkomplex, der die Milchdrüse im Lauf der Entwicklung aufbaut, doch muß ihr Einfluß in unserem Versuch

DNS-Gehalt der Brustdrüsen

K	unbehandelte Kontrollen
OE	10 µ Östradiol 21 Tage lang sc.
FEM	Prä- und postnatal mit Cyproteronacetat feminisiert
HE	Hypophysektomie

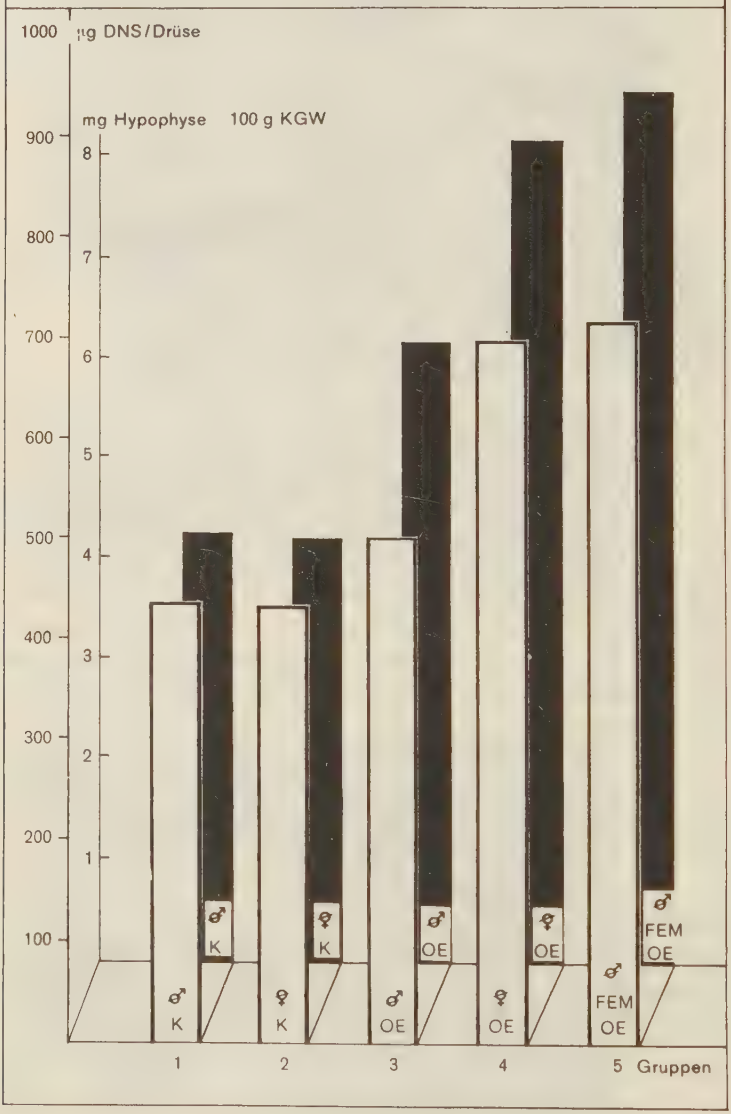


Abbildung 41

sehr gering veranschlagt werden - sofern sie überhaupt als Fehlerquelle in Betracht kommen -, wenn man sich folgendes vor Augen hält:

1. STH

- Die für die Erhärtung unserer Grundthese wichtigsten Gruppen 3,4 und 5 haben im Bezug auf die STH - Sekretion nahezu die gleichen Voraussetzungen.
- Es gibt keinen Anhaltspunkt für die Annahme einer die physiologische Norm übersteigende STH - Sekretion.
- Das STH entfaltet an der Milchdrüse eine stimulierende Wirkung nur im Zusammenhang mit einem anderen Co-Mammogen. Alleine vermag es an der Milchdrüse kaum etwas auszurichten (COWIE 1957, BENSON und FOLLEY 1957, LYONS, LI und JOHNSON 1958, HADFIELD und YOUNG 1958, MEITES 1965, KUMARESAN und TURNER 1965). Findet das STH im Organismus jedoch eine hochwirksame mammogene Hormonkombination an - wie in unserem Falle eine Östrogen/PROLACTIN - Kombination -, so vermag es deren Wirkung nicht wesentlch zu erhöhen (LYONS, LI und JOHNSON 1958, KUMARESAN und TURNER 1967). STH kann aber notfalls die Wirkung eines der Komponenten bis zu einem gewissen Grade ersetzen. Dies trifft allerdings nur für das in unserem Experiment auch bedeutungsvolle Wachstum der Drüse zu, nicht für die Laktation, wo das STH zur Verhinderung eines Gewichtsverlustes beim Muttertier notwendig ist (LYONS, LI und JOHNSON 1958, MEITES 1957).
- Gehen wir von unserer These einer erheblich niedrigeren PROLACTIN - Sekretion im männlichen Organismus aus, so können wir allenfalls für Gruppe 3 eine ins Gewicht fallende Wirkung des STH annehmen, da es hier auf Grund eines relativen PROLACTIN - Mangels zu einem ausgeprägteren Synergismus zwischen STH und der Östrogen/PROLACTIN-Kombination gekommen sein könnte. In den

Gruppen 4 und 5 war bereits eine wirkungsoptimale Östrogen/PROLACTIN-Kombination vorhanden. In Falle der Gruppe 3 würde also das STH den Unterschied zwischen den Gruppen 3 und 4 bzw.5 verringern.

- Unsere Ergebnisse, die ja gerade in der Differenz zwischen Gruppe 3 und den Gruppen 4,5 eindeutig sind, sprechen klar gegen einen nennenswerten Einfluß des STH im Sinne der vorangegangenen Überlegungen.
- Bei den Gruppen 1 und 2 ist wegen des Fehlens eines starken Co-Mammogens die Voraussetzung für ein Wirksamwerden des STH an der Milchdrüse nicht gegeben.

2. ACTH (Kortikoide)

Das ACTH kommt noch weniger als Fehlerquelle in Betracht. Sehen wir einmal davon ab, daß auch für die ACTH- bzw. NNR-Sekretion bei den Gruppen 3, 4 und 5 fast identische Voraussetzungen bestehen, so ist die Unbedenklichkeit gegenüber dem Einfluß der Kortikoide auf die Milchdrüsenentwicklung in erster Linie durch den Modus ihres Angriffs auf die Mamma bedingt:

- Seit langem ist bekannt, daß die Kortikoide vor allem die Sekretion der Milchdrüse stimulieren, das Wachstum jedoch kaum beeinflußen (COWIE 1952, AHREN und JACOBSOHN 1957, JOHNSON und MEITES 1958, LYONS, LI und JOHNSON 1958, GRIFFITH und TURNER 1963, BATES, MILKOVIC und GARRISON 1964).
- Mehrere Untersucher fanden in Hypophysen/Hypothalamus - Kokulturen eine positive feed-back - Beziehung zwischen Kortikoiden und PROLACTIN (SULMAN, BENDAVID, DANON, DIKSTEIN, KHAZAN, MISHKINSKY und ZOR 1963/64, TUCKER, PAAPE und SINHA 1967).
- Schließlich gelang es MEITES und seinen Mitarbeitern, eine Verringerung des PIF-Gehaltes im Hypothalamus nachzuweisen, sobald Kortikoide verabfolgt wurden (NICOLL und MEITES 1964, SAR und MEITES 1968).

Damit liegt nahe, daß die Kortikoide die Mammasekretion hauptsächlich indirekt anregen und zwar durch eine Blockierung des PIF, die eine entsprechend erhöhte PROLACTIN - Sekretion zur Folge hat. Gehen wir aber von unserer Grundthese aus, der androgenabhängigen irreversiblen Prägung des PIF - Zentrums auf eine geschlechtsspezifische Reaktionsnorm, so ist das Ausmaß eines eventuellen Einflusses der Kortikoide belanglos. Die Kortikoide könnten die Sekretionsrate des PROLACTINS nur im Rahmen dieser vorgegebenen geschlechtsspezifischen Reaktionsnormen variieren. Da in den Gruppen 3, 4 und 5 hinsichtlich der Kortikoidsekretion nahezu identische Bedingungen bestanden, konnten die Kortikoide den Unterschied der Resultete bei diesen Gruppen nicht verfälschen. Als Fehlerquelle scheiden sie daher aus.

Nimmt man überhaupt einen beachtenswerten Einfluß der Kortikoide in unserem Versuch an, so werden unsere Überlegungen durch die Ergebnisse der Gruppen 3, 4 und 5 voll bestätigt. In den Gruppen 1 und 2 erübrigt sich eine Diskussion des Kortikoideinflusses, da kein sekretionsfähiges Gewebe vorhanden war.

Fassen wir das Ergebnis dieser Erörterungen zusammen, so können wir feststellen, daß ein die Signifikanz der Versuchsergebnisse grob verfälschender Einfluß des STH und des ACTH mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann.

4.6. KRITISCHE WÜRDIGUNG DER METHODEN

Die Interpretation der Ergebnisse muß noch durch eine Abwägung der Aussagekräftigkeit der angewandten Methoden relativiert werden, da keine dieser Methoden für sich

absolute Gültigkeit beanspruchen kann.

1. Die WHOLE MOUNT PREPARATION

Die WHOLE MOUNT PREPARATION lässt nur eine grobe quantitative und qualitative Einschätzung des Drüsenwachstums zu. Trotzdem die Ratte den Spezies mit flächenhaftem Drüsenwachstum zuzurechnen ist, ist das Verhältnis von Tiefen- zu Flächenwachstum durchaus stärkeren Schwankungen unterworfen. Ein Vergleich der Abbildung 15 mit Abbildung 16 (S.36) - beide Tiere gehören derselben Gruppe an - beweist das.

2. HISTOLOGIE

Die histologische Auswertung gestattet zwar eine exakte qualitative Aussage über die Art des Wachstums und den Funktionszustand der Drüse, doch sind einer quantitativen Erfassung des Drüsenwachstums hier noch engere Grenzen gesetzt. Das Zentrum der Drüse kann bei Entnahme des Gewebsstückes nicht immer genau getroffen werden und die einzelnen Schnitte selbst entziehen sich auf Grund der relativen Zufälligkeit der Schnittebenen jeder exakten systematischen Auswertung, sodaß wir mit Hilfe der Histologie eigentlich nur Ergebnisse bestätigen konnten, die bereits durch die WHOLE MOUNT PREPARATION gewonnen worden waren.

3. DNS - BESTIMMUNG

Die DNS - Bestimmung ist in unserem Versuch die objektivste quantitative Auswertungsmethode. Die hier erzielten Ergebnisse stimmen mit den makroskopischen und mikroskopischen Befunden sehr gut überein (Siehe Abbildung 41).

4. HYPOPHYSENGEWICHTE

Die Gewichtsbestimmung der Hypophysen ist natürlich nur ein grober Indikator für die Aktivität der prolactinpro-

duzierenden Hypophysenvorderlappenzellen und für das gespeicherte PROLACTIN. Trotzdem kann das Gewicht als Parameter für die Prolactinstimulierung ohne Bedenken verwendet werden, weil unsere Versuchsanordnung eine andere endokrinologische Erklärung der Gewichtsunterschiede nicht zulässt - sehen wir einmal von einer geringfügigen Erhöhung der ACTH - Ausschüttung ab, die bei Ratten während einer Östrogenbehandlung immer beobachtet werden kann. Bei den Gruppen 1 und 2 (Unbehandelte, männliche und weibliche Kastraten) muß bei der Interpretation der Hypophysengewichte außerdem berücksichtigt werden, daß sie wegen des Fehlens von exogenen und endogenen Keimdrüsenhormonen sicherlich eine Hypersekretion von Gonadotropinen aufwiesen, die das Hypophysengewicht gegenüber der Norm leicht erhöht hatte.

Eine exakte Bestimmung des PROLACTIN - Gehalts der Hypophysen und des Serums hätte das Programm dieses Experiments in wünschenswerter Weise abgerundet. Tatsächlich wurde auch ein Taubenkropftest nach NICOLL (1967) durchgeführt. Wegen des unzureichenden Tiermaterials - es wurden wahllos eingefangene Stadttauben verwendet - war das Ergebnis leider nicht verwendbar. Allein die Standardwerte differierten von Tier zu Tier ganz erheblich. An die Stelle der bislang üblichen, doch recht unsicheren biologischen Prolactinbestimmung sollte möglichst bald eine radioimmunologische Methode treten.

VI. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Es wurde an Ratten untersucht, welchen Einfluß Androgene auf die Differenzierung derjenigen hypothalamischen Region haben, welche die hypophysäre PROLACTIN - Sekretion steuert und damit das wichtigste mammogene Hormon.

2. Zu diesem Zweck wurden genetisch männliche Ratten feminisiert und mit Östradiol behandelt. Die Feminisierung erfolgte durch die Gabe von Antiandrogenen (CYPROTERONAZETAT) an gravide Muttertiere vom 13. bis zum 22. Tag der Schwangerschaft. In dieser Zeit findet die somatische Sexualdifferenzierung des Feten statt. Den Neugeborenen wurden vom 1. bis zum 1o. Lebenstag ebenfalls Antiandrogene gegeben. Dieser Zeitraum entspricht der Phase der Sexualdifferenzierung des Hypothalamus.

3. Die solcherart feminisierten männlichen Ratten wurden bei einem Gewicht von 40 g gonadektomiert. Sobald die Tiere ein Gewicht von etwa 200 g erreicht hatten, wurde die PROLACTIN - Sekretion durch die tägliche Gabe von 10 Gamma Östradiol 21 Tage lang stimuliert. Dieselbe Behandlung erfuhren eine männliche und weibliche Kontrollgruppe, die nicht mit Antiandrogenen vorbehandelt worden war. Weiterhin war je eine weibliche und männliche Kontrollgruppe zusätzlich hypophysektomiert worden, während zwei weitere Kontrollgruppen zwar gonadektomiert worden waren, aber sonst nicht behandelt wurden.

4. Das Ausmaß der erfolgten Sekretionsstimulierung von PROLACTIN wurde gemessen an Hand der Entwicklung der Milchdrüsen sowie an Gewichtsveränderungen der Hypophyse. Dabei gelangten die folgenden Methoden zur

Anwendung :

1. WHOLE MOUNT PREPARATION - Größe der Drüsen
2. HISTOLOGIE - Qualität des Wachstums
3. DNS-BESTIMMUNG - Quantität des Wachstums
4. HYPOPHYSENGEWICHTE - Zentrale Aktivität

5. Alle gemessenen Größen bieten ein einheitliches Bild. Die mit Östradiol stimulierten feminisierten Böcke und weiblichen Kastraten zeigen eine identische Milchdrüsenentwicklung mit vollem lobulo-alveolärem Aufbau sowie eine nahezu gleichwertige Erhöhung der Hypophysengewichte. In der Gruppe der östradiolbehandelten männlichen Kastraten fand sich eine signifikant verminderte Milchdrüsenentwicklung. Diese Tiere hatten zwar auch schon einzelne Alveolen ausgebildet, doch erreichte der Aufbau der Drüsen bei weitem nicht das Ausmaß der vorgenannten Gruppen. Auch die Hypophysen dieser Gruppe hatten ein signifikant geringeres Durchschnittsgewicht als die feminisierten Böcke und die weiblichen Kastraten.
Die Gruppe der unbehandelten männlichen und weiblichen Kastraten boten ebenfalls identische Bilder. Die Milchdrüsen waren kaum entwickelt und boten keine Anzeichen einer Aktivität. Die Hypophysen dieser Gruppe wiesen die niedrigsten gemessenen Gewichte auf.
Die hypophysektomierten Kontrollgruppen, die auch mit Östradiol behandelt worden waren, zeigten eine bei den männlichen und weiblichen Tieren gleichmäßige Entwicklung des Gangsystems der Milchdrüse. Hier war kein Sekretionsgewebe mehr entwickelt worden.

6. Die vorgefundenen Ergebnisse wurden als eine Bestätigung der dem Experiment zu Grunde liegenden Hypothese interpretiert, nach der das hypothalamische Zentrum, das an die Hypophyse den PROLACTIN - INHIBITING - FACTOR (PIF) absondert und damit die hypophysäre PROLACTIN - Sekretion reguliert, durch den Einfluß der fetalen und neonatalen

Androgene auf einen geschlechtsspezifischen Reaktionstyp programmiert wird. Wie wir sowohl an der Hypophyse als auch an dem Erfolgsorgan Milchdrüse signifikant demonstrieren konnten, war bei genetisch männlichen Tieren durch die Ausschaltung der Androgene in der Differenzierungszeit die weibliche Regelgröße der PROLACTIN - Sekretion im Sinne einer Prägung festgelegt worden.

Dieses Ergebnis befindet sich in guter Übereinstimmung mit anderen Arbeiten, in denen bereits für die somatische Sexualdifferenzierung, für die Differenzierung der Sexualfunktionen und für die Differenzierung derjenigen hypothalamischen Zentren, die für die Steuerung des Sexualverhaltens verantwortlich sind, eine Androgenabhängigkeit nachgewiesen worden war.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. AHREN, K., 1959a. - Effect of insulin on body growth and mammary gland development in force-fed hypophysectomized rats injected with ovarian hormones. Acta endocr. (Kbh.) 30, 593.

2. AHREN, K., 1959b. - The effect of various doses of estrone and progesterone on the mammary gland of castrated hypophysectomized rats injected with insulin. Acta endocr. (Kbh.) 28, 435.

3. AHREN, K. und M. ETIENNE 1958 - Stimulation of mammary glands in hypophysectomized male rats treated with ovarian hormones and insulin. Acta endocr. (Kbh.) 28, 89.

4. AHREN, K. und M. ETIENNE 1959 - The effect of testosterone alone and combined with insulin on the mammary glands of castrated and hypophysectomized rats. Acta endocr. (Kbh.) 30, 109.

5. AHREN, K. und D. JACOBSOHN 1956a. - Mammary gland growth in hypophysectomized rats injected with ovarian hormones and insulin. Acta physiol. scand. 37, 190.

6. AHREN, K. und D. JACOBSOHN 1956b. - Recherches récentes sur l'action de l'insuline et de la cortisone sur la glande mammaire de jeunes rats hypophyséctomisés. Ann.Endocr. (Paris) 17, 547.

7. AHREN, K. und D. JACOBSOHN 1957 - The action of cortisone on the mammary glands of rats under various states of hormonal imbalance. Acta physiol.scand. 40, 254.

8. ARIMURA A., T.SAITO, E.E.MÜLLER, C.Y.BOWERS, S.SAWANO und A.V.SCHALLY 1967 - Absence of prolactin-release inhibiting activity in highly purified LH-releasing factor. Endocrinology 80, 972.

9. ASCHHEIM s. und B.ZONDEK 1927 - Das Hormon des Hypophysenvorderlappens. Klin. Wschr. Nr. 6, 248

10. ASTWOOD E.B. 1941 - The regulation of corpus luteum function by hypophysial Luteotrophin. Endocrinology 28, 309.

11. ASTWOOD E.B., C.F.GESCHICKTER und E.O.RAUSCH 1937 - Development of the mammary gland of the rat. A study of normal, experimental and pathologic changes and their endocrine relationships. Amer. J.Anat. 61, 373

12. AVERILL S.C., E.W.RAY und W.R.LYONS - 1950 - Maintenance of pregnancy in hypophysectomized rats with placental implants. Proc. Soc. exp. Biol. (NY) 75, 3

13. BARNES B.G. - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed. Centre Natl. Rech. Sci. Paris, 91-103

14. BARRACLOUGH C.A. und J.H.LEATHEM - 1954 - Infertility induced in mice by a single injection of testosterone propionate. Proc.Soc.exptl.Biol.(N.Y.) 85, 673

15. BARRACLOUGH C.A. - 1961 - Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. Endocrinology 68 62

16. BARRACLOUGH C.A. und R.A.GORSKI - 1961 - Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. Endocrinology 68 68

17. BARRACLOUGH C.A. und R.A.GORSKI - 1962 - Studies on mating behaviour in the androgen-sterilized female rat in relation to the hypothalamic regulation of sexual behaviour. J.Endocrin. 25 175

18. BARNETT R.J., W.D.ROTH und J.SAIZER - 1961 - The histochemical demonstration of the sites of luteotropic hormone in the rat pituitary gland. Endocrinology 69 1047

19. BASCH K. - 1906 - Beiträge zur Physiologie der Milchdrüse. Jb.Kinderheilk. 64 795

20. BASCH K. - 1909 - Über experimentelle Auslösung von Milchabsonderung. Mschr. Kinderheilk. 8, Nr.9

21. BASCH K. - 1910 - Über experimentelle Milchauslösung und über das Verhalten der Milchabsonderung bei den zusammengewachsenen Schwestern Blazek. Dtsch. med. Wschr. Nr. 21 987

22. BATES R.W., R.A.MILLER und M.M.GARRISON - 1962 - Evidence in zhe hypophysectomized pigeon of a synergism among prolactin, growth hormone, thyroxine and prednisone upon weight of the body, digestive tract, kidney and fat stores. Endocrinology 71 345

23. BATES R.W., S.MILKOVIC und M.M.GARRISON - 1964 - Effects of prolactin, growth hormone and ACTH, alone and in combination, upon organ weights and adrenal function in normal rats. Endocrinology 74 714

24. BEACH F.A. - 1952 - Zitiert nach J.T.EAYRS. Ciba Found. Coll. on Endocrinology III. 18

25. BEN-DAVID M., S.DIKSTEIN und F.G.SULMAN - 1964 - Effect of different steroids on prolactin secretion in pituitary-hypothalamus organ co-culture. Proc. Soc.exptl.Biol.(N.Y.) 117 511

26. BENGMARK S. und R.HESSELSJO - 1963 - The combined effect of prolactin and androsterone on the growth of rst seminal vesicle in vitro. Urol. Internatl. (Basel) 16 387

27. BENGMARK S. und R.HESSELSJO - 1964 - Endocrine dependence of rat seminal vesicle tissue in tissue culture. Urol. Internatl. 17 84

28. BENOIT J. und C.DALAGE - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed. Centre Natl. Rech. Sci. Paris 434

29. BENSON G.K., A.T.COWIE, S.J.FOLLEY und J.S.TINDALL - 1959 - Recent developments in endocrine studies on mammary growth and lactation. In: C.W.LLOYD (ed.), Recent progress in the endocrinology of reproduction, p.457 New York and London: Academic Press Inc.

30. BENSON G.K., A.T.COWIE, C.P.FOX, D.S.FLUX and S.J. FOLLEY - 1955 - Studies on the hormonal induction of mammary growth and lactation in the goat.II.Functional and morphological studies of hormonally developed udders with special reference to the effect of triggering doses of oestrogen. J.Endocr. 13 46

31. BENSON G.K. und S.J.FOLLEY - 1957 - The effect of oxytocin on mammary gland involution in the rat. J.Endocr. 16 189

32. BENSON G.K., A.T.COWIE, C.P.COX und S.A.GOLDZWEIG - 1957 - Effects of estrone and progesterone on mammary development in the guinea - pig. J.Endocr. 15 126

33. CHOWERS I. und S.M.McCANN - 1967 - Comparison of the effect of hypothalamic and pituitary implants of estrogen, testosterone on reproductive system and adrenal of female rats. Proc. Soc. exptl. Biol. (N.Y.) 124 260

34. COLE H.A. - 1933 - The mammary gland of the mouse, during the oestrus cycle, pregnancy and lactation. Proc. roy. Soc. B 114 136

35. COLE R.D., I.I.GESCHWIND und C.H.LI - 1957 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 224 399

36. COWIE A.T. - 1949 - The relative growth of the mammary gland in normal, gonadectomized and adrenalectomized rats. J.Endocr. 6 145

37. COWIE A.T. - 1952 - Influence on the replacement value of some adrenal cortex steroids of dietary sodium and synergism of steroids in lactating and adrenalectomized rats. Endocrinology 51 217

38. COWIE A.T. - 1957 - The maintenance of lactation in the rat after hypophysectomy. J.Endocr. 16 135

39. COWIE A.T. und W.R.LYONS - 1959 - Mammogenesis and lactogenesis in hypophysectomized, adrenalectomized, ovariectomized rats. J.Endocr. 19 29

40. COWIE A.T. and S.J.FOLLEY - 1961 - The mammary gland and lactation. In: W.C.YOUNG (ed.) Sex and internal secretions, p.590. Baltimore: Williams and Wilkins Co.

41. DAO T.L. und D.GAWLAK - 1963 - Direct mammatrophic effect of a pitauitary homograft in rats. Endocrinology 72 884

42. DESCLIN J.Jr. - 1963 - In: Compt.Rend.Acad.Sci. 257 3042 zitiert nach: MEITES und NICOLL 1966

43. DESCLIN L. - 1952 - Interaction between prolactin and progesterone in the regulation of the secretory processes in the mammory gland. Ciba Found. Coll. on Endocr. 4 395

44. DESCLIN L. - 1963 - Cytologie de l'adenohypophyse. Ed.Centre Natl.Rech.Sci. Paris 287-300

45. DE VOE W.F., V.D. RAMIREZ und S.M.McCANN - 1966 - Induction of mammory secretion by hypothalamic lesions in male rats. Endocrinology 78 158

46. DHARIWAL A.P.S., C.E.GROSVENOR, J.ANTUNES -RODRIGUES und S.M.McCANN - 1968 - Studies on the purification of ovine prolactin-inhibiting-factor. Endocrinology 82 1236

47. DÖRNER G. und F.DÖCKE - 1964 - A sex - specific reaction of the hypothalamo - hypophysial system of rats. J. Endorcrin. 30 265

48. ECKHARDT C. - 1858 - Die Nerven der weiblichen Brustdrüse und ihr Einfluß auf die Milchsekretion. In: C.ECKHARDT, Beitr.Anat. und Physiol. 1 1-22

49. EHRHARDT K., WIESBACHER und FOSCANEANU - 1929 - Hypophysenvorderlappenimplantation bei Rhesusaffen. Endocrinology

50. ELGER W. - 1966 - Die Rolle der fetalen Androgene in der Sexualdifferenzierung des Kninchens und ihre Abgrenzung gegen andere hormonale und somatische Faktoren durch Anwendung eines starken Antiandrogens. Arch.Anat.microscop.Morph.exp. 55 658

51. ELGER W. - 1969 - Einfluß von Gestagenen auf Befruchtung, Eiernährung, Eitransport und Schwangerschaftsverlauf. In: Die Gestagene, Teil II; Handbuch der experimentellen Pharmakologie XXII/2, Hrsg.: Karl Junkmann; Springer-Verlag Bln-Heidelberg-New York

52. ELGER W. und F.NEUMANN - 1966 - The role of androgens in the differentiation of the mammary gland in male mouse fetuses. Proc.Soc.Exptl.Biol. (N.Y.) 123 637

53. EMMART E.W., R.W.BATES, P.G. CONDLIFFE and W.A.TURNER - 1963 - Immunochemical studies with ovine prolactin. Proc.Soc.exptl.Biol.and Med. 114 754

54. EMMART E.W., R.W.BATES and W.A.TURNER - 1965 - Localization of prolactin in rat pituitary and in a transplantable mammotropic pituitary tumor using fluorescent antibody. J.Histochem.Cytochem. 13 182

55. EMMART E.W., SS.SPICER und R.W.BATES - 1963 - Localization of prolactin within the pituitary by specific fluorescent antiprolactin globulin. J.Histchem.Cytochem. 3 365

56. EVERETT J.W. - 1954 - Luteotropic function of autografts of the rat hypophysis. Endocrinology 54 685

57. EVERETT J.W. - 1956 - Functional corpora lutea maintained for months by autografts of rat hypophyses. Endocrinology 58 786

58. EVERETT J.W. - 1964 - Central neural control of reproductive function of the adenohypophysis. Physil. Rev. 44 373

59. EVERETT J.W., C.H.SAWYER und J.E.MARKEE - 1949 - A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat. Endocrinology 44 234

60. FARQUAR M.G. und J.F.RINEHART - 1954 - Electron microscopic studies of the anterior pituitary galnd of castrated rats. Endocrinology 54 516

61. FERGUSON D.J. - 1956 - Endocrine control of mammary glands in C_3H mice. Surgery 39 30

62. FLERKO B. und J. SZENTAGOTHAI - 1957 - Oestrogen sensitive nervous structures in the hypothalamus. Acta Endocr. 26 121

63. FLUX D.S. - 1954 - Effect of 17- Vinyltestosterone on the mammae, uteri, thymus and andrenal glands of spayed female mice. Proc.Soc.exptl.Biol.(N.Y.) 85 16

64. FLUX D.S. - 1957 - The growth-stimulating effect of growth hormone and L-Thyroxine on the mammary glands and uterus of the mouse. J.Endocr. 15 266

65. FLUX D.S. - 1958 - Mammary gland growth in male mice of the CHI strain after hypophysectomy and castration. J.Endocr. 17 300

66. FOLLEY S.J. - 1947 - Endocrine control of the mammary gland.I.Mammary development. Brit.med.Bull.5 130

67. FOLLEY S.J. - 1947 - Recent researches on the physiology of mammary development and lactation. Proc.roy. Soc.B 40 37

68. FOLLEY S.J. - 1952 - Aspects of pituitary mammary gland relationships. Recent Progr. Hormone Res. 7 107

69. FOLLEY S.J. - 1952 - in: A.S.PARKER (ed.), MARSHALL's physiology of reproduction, 3rd ed., vol II., p. 525. London: Longmans, Green Co.

70. FREUD J. und S.E.DE JONGH - 1935 - The effect of progestin upon the mammary gland of the rat. Acta brev. neerl.Physiol. 5 47

71. FREYER M.E. und H.M.EVANS - 1923 - Participation of the mammary gland in the changes of pseudopregnancy in the rat. Anat.Rec.25 108

72. GARDNER W.U. - 1940 - Growth of the mammary glands in hypophysectomized mice . Proc.Soc.Exp.Biol.(N.Y.) 45 835

73. GARDNER W.U. und A.WHITE - 1941 - Mammary growth in hypophysectomized male mice receiveing oestrogen and prolactin. Proc.Soc.Exp.Biol.(N.Y.) 48 590

74. GARDNER W.U. und A. WHITE - 1942 - Mammary growth in hypophysectomized male mice. Anat. Rec. 82 414

75. GIROD C. - 1962 - Identification expérimentale de cellules E, source de prolactine, dans l'antéhypophyse du Sing Macacus sylvanus L.; Compt.Rend. Soc.Biol. 156 845

76. GIROD C. - 1964 - Etude éxpérimentale des cellules à prolactine de la pars distalis de l'hypophyse chez les Singe Macacus irus F. Compt.Rend.Acad. Sci. 258 5079

77. GOTZ - 1874 - Über den Einfluß des Nervensystems auf die Vorgänge während der Schwangerschaft und des Gebäraktes. Pflügers Archiv 9

78. GOMEZ E.T. - 1942 - Mammary gland growth in hypophysectomized castrated guinea pigs. Edocrinology 31 613

79. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER - 1936 - Effect of hypophysectomy and replacement therapy an lactation in guinea pig. Proc.Soc.Exp.Biol.(N.Y.) 34 404

80. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER - 1937 - Hypophysectomy and replacement therapy in relation to the growth and secretory of the mammary gland. Mo.Agric.Exp.Sta. Res.Bull. 259

81. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER, W.U.GARDNER und R.T.HILL -1937- Oestrogenic treatement of hypophysectomized male mice. Proc.Soc.Exp.Biol.(N.Y.) 36 287

82. GORSKI R.A. und C.A.BARRACLOUGH - 1963 - Effects of low dosages of androgen on the differenciation of hypothalamic regulatory cotrol of ovulation in the rat. Endocrinology 73 210

83. GORSKI R.A. und J.W.WAGNER - 1965 - Ganadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. Endocrinology 76 226

84. GRAYHACK J.T. - 1963 - In: J.Ntl.Cancer Inst. Monograph., 12 189, zitiert nach MEITES, NICOLL 1966

85. GRIFFITH D.R. und C.W.TURNER - 1961 - Nornal growth of rat mammary glands during pregnancy and early lactation. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 106 448

86. GRIFFITH D.R. und C.W.TURNER - 1963 - Experimental " lactational " mammary gland growth in the rat as measured by DNA. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 112 424

87. GROSVENOR C.E. - 1965 - Effect of nursing and stress upon prolactin-inhibiting activity of the rat hypothalamus. Endocrinology 77 1037

88. GROSVENOR C.E. - 1965a. - Evidence that exteroceptive stimuli can release prolactin from the pituitary gland of the lactating rat. Endocrinology 76 340

89. GROSVENOR C.E., F.MENA, A.P.S.DHARIWAL und S.M.McCANN - 1967 - Reduction of milk secretion by prolactin-inhibiting-factor; further evidence that exteroceptive stimuli can release pituitary prolactin in rats. Endocrinology 81 1021

90. GROSVENOR C.E., S.M.McCANN und R.NALLAR - 1965 - Inhibition of nursing-induced and stress-induced fall in pituitary prolactin concentration in lactating rats by injections of acid extracts of bovine hypothalamus. Endocrinology 76 883

91. GROSVENOR C.E., F.MENA und D. SCHAEFGEN - 1967 - Effect of nonsuckling interval and duration of suckling on the suckling-induced fall in pituitary prolactin concentration in the rat. Endocrinology 81 449

92. HADFIELD G. und J.S.YOUNG - 1956 - The mammotrophic potency of human urine. Brit.J.Cancer 10 145

93. HADFIELD G. und J.S.YOUNG - 1958 - The controling influence of the pituitary on the growth of the normal breast. Brit.J.Surg. 46 265

94. HAHN D.W. und C.W.TURNER - 1966 - Effect of oestrogen and progesterone on mammary gland DNA and feed intake in hypophysectomized female rats. Proc. Soc.exp.Biol.(N.Y.) 122 183

95. HAMADA H., NEUMANN F. und JUNKMANN K. - 1963 - Intrauterine antimaskuline Beeinflußung von Rattenfoeten durch ein stark gestagen wirksames Steroid. Acta endocr. (Kbh.) 44 380

96. HAMMOND J. Jr. und F.H.A.MARSHALL - 1930 - Oestrus and pseudo-pregnancy in the ferret. Proc.roy.Soc.B 105 607

97. HARAN - GHERA - 1966 - Persönliche Mitteilung an MEITES, zitiert nach MEITES,NICOLL 1966

98. HARKNESS M.L.R. und R.D.HARKNESS - 1956 - The effect of pregnancy and lactation on the collagen content of the mammary gland of the rat. J.Physiol.(Lond.) 132 476

99. HARRIS G.W. - 1963 - Castration of the new-born male rat and lack of sexual differentation of the brain. J.Physiol.(Lond.) 169 117

100. HARRIS G.W. - 1964 - Sex hormons, brain development and brain function. Endocrinology 75 627

101. HARRIS G.W. und S.LEVINE - 1962 - Sexual differentiation of the brain and its experimental cotrol. J.Physiol.(Lond) 163 42

102. HEIDENHAIN H. - 1880 - Die Milchabsonderung. In: Herrmann's Handbuch der Physiologie, 374 - 406, Leipzig

103. HERFF O.v. - 1889 - Beiträge zur Lehre der Galaktorrhoe.

104. HERLYN U., H.F.GELLER, I.v.BERSWORDT - WALLRABE und R.v. BERSWORDT - WALLRABE - 1965 - Pituitary lactogenic hormone release during onset of pseudopregnancy in intact rats. Acta Endocr. 48 220

105. HÖHN E.O. - 1957 - The effect of oestrone on the mammary gland of adrenalectomized guinea-pigs. J.Endocr. 16 227

106. HUXLEY J.S. und G.TEISSIER - 1936 - Terminology of relative growth. Nature 137 780

107. HYMER W.C., W.H.McSHAN und R.G.CHRISTIANSEN - 1961 - Electron microscopic studies of the anterior pituitary glands from lactating and oestrogen-treated rats. Endocrinology 69 81

108. JACOBSOHN D. - 1954 - Action of oestradiol monobenzoate on the mammary gland of hypophysectomized rabbits. Acta Physiol.Scan 32 304

109. JACOBSOHN D. - 1958 - Mammary gland growth in relation to hormones with metabolic actions. Proc.roy.Soc. B 149 325

110. JACOBSOHN D. - 1962 a - Modification by oestrogens of the reaction of the rat's mammary gland to androgens. Acta.Endocr. 41 88

111. JACOBSOHN D. - 1962b. - Interaction of oestrogens and androgens on the mammary gland and growth of other tissues in hypophysectomized rats treated with insulin, cortisone and thyroxine. Acta Endocr. 41 287

112. JACOBSOHN D. und A. NORGREN - 1965 - Oestrogens and corticoids in relation to mammary gland growth in male rats. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 118 1106

113. JOHNSON R.M. und J. MEITES - 1958 - Effects of cortisne acetate on milk production and mammary involution in parturient rats. Endocrinology 63 290

114. JOST A. - 1946/47 - Recherches sur la différenciation sexuelle de l'embryon de lapin: I. Introduction et embryologie génitale normale. - II. Action des androgènes de syntèse sur l'histogenèse genitale. - III. Rôle des gonades foetales dans la différenciation sexuelle somatique. Arch.Anat.micr.Morph. exp. 36, 151; 242; 271.

115. JOST A. und Mme BERGERARD Y. - 1949 - Culture in vitro d'ébauches du tractus génital du foetus de rat. C.R.Soc.Biol. 143 608

116. JOST A und B.BOZIC - 1951 - Données sur la différeciation des conduits génitaux du foetus de rat, étudié in vitro. C.R.Soc.Biol. 145 647

117. KAHN R.H., B.L. BAKER und D.B.ZANOTTI - 1965 - Factors modifying the stimulatory action of norethynodrel on the mammary gland. Endocrinology 77 162

118. KAHN R.H. und B.L.BAKER - 1966 - Prolactin content of the rat hypophysis following treatment with norethynodrel. Acta. Endocr. (Kbh.) 51 411

119. KANEMATSU S., J. HILLIARD und C.H.SAWYER - 1963 - Effect of reserpine on pituitary prolactin content and its hypothalamic site of action in the rabbit. Acta Endocr. 44 467

120. KANEMATSU S. und C.H.SAWYER - 1963 - Effects of intra-hypothalamic and intrahypophysial oestrogen implants on pituitary prolactin and lactation in the rabbit. Endocrinology 72 243

121. KINCL F.A., A.FOLCH, M.MAQUEO, L.HERRERA LASSO, A.ORIOL und R.I.DORFMAN - 1965 - Inhibition of sèxual development in male and female rats treated with various steroids at the age of five days. Acta Endocr. 49 193

122. KRIKHAM W.R. und C.W.TURNER - 1953 - Nucleic acids of the mammary glands of rats. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 83 123

123. KOBAYASHI T., TAKURO KOBAYASHI, T.KIGAWA, M.MIZUNO und Y.AMENOMORI - 1963 - Prolactin secretion of rat anterior pituitary cultivated in vitro. Endocrinol. Japon. 10 199

124. KOZIOROWSKA J. - 1962 - Influence of hormones on mouse mammary glands cultured in vitro. Acta Unio Internatl. Contra Cancrum 18 211

125. KRAMER M., F.NEUMANN und W.ELGER - 1965 - Zur Beudeutung fetaler Androgene für die Geschlechtsdifferenzierung. Arch.exp.Path.Pharm. 251 124

126. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1965 - Effect of growth hormone and thyroxine on mammary gland growth in the rat. J.Diary Sci. 48 592

127. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1965 - Effect of insuline and alloxan on mammary gland growth in rats. J Diary Sci. 48 1378

128. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1966 - Effect of neonatal administration of testosterone propionate upon mammary gland growth in female rats. Endocrinology 79 443

129. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1967 - Effect of varous hormones on mammary gland growth of ovariectomized rats.Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 125 556

130. KUROSHIMA A., A.ARIMURA, C.Y.BOWERS und A.V.SCHALLY - 1966 - Inhibition by pig hypothalamic extracts of depletion of pituitary prolactin in rats following cervical stimulation. Edocrinology 78 216

131. KURCZ M., K.KOVACS, T.TOBOLDI und A.OROSZ - 1967 - Effect of androgenisation on adenohypophysial prolactin content in rats. Acta Endocr. 54 663

132. LEONARD S.L. - 1943 - Stimulation of mammary glands in hypophysectomized rats by oestrogen and testosterone. Endocrinology 32 229

133. LEONARD S.L. und R.P.REECE - 1945 - Failure of steroid hormones to induce mammary growth in hypophysectomized rats. Edocrinology 30 32

134. LEVINE S. und R.MULLINS Jr. - 1964 - Oestrogen administered neonatally affects adult sexual behaviour in male an female rats. Science 144 185

135. LI C.H. - 1952 - Recent studies on the problems involved in the preparation, properties and bioassay of adrenocorticotrophic hormone. Acta endocrin. Paris 10 255

136. LI C.H. - 1957 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 229 157

137. LI C.H., R.D.COLE und M.COVAL - 1957 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 229 153

138. LI C.H. und J.T.CUMMINS - 1958 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 233 73

139. LI C.H. und H.M.EVANS - 1958 - in: The hormones, vol.I., p.631, Academic press New York

140. LI C.H., I.I.GESCHWIND, A.L.LEVY, J.I.HARRIS, J.S. DIXON, N.C.DON und J.O.PORATH - 1954 - Isolation and properties of alfa - corticotropin from sheep pituitary glands. Nature 173 251

141. LI C.H., W.R.LYONS und H.M.EVANS - 1941 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol. Chem.140 43

142. LI C.H., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1942 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J. biol. Chem. 146 627

143. LYONS W.R. - 1942 - The direct mammatrophic action of lactogenic hormone. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.)51 308

144. LYONS W.R. - 1943 - Lobulo-alveolar mammary growth induced in hypophysectomized rats by injections of hypophyseal and ovarian hormones; in: Essays in biology, p. 317. Berkely: California University press

145. LYONS W.R. - 1944 - Evidence of placental mammatrophin. Anat. Rec. 88 446

146. LYONS W.R. - 1950 - Lobulo-alveolar mammary growth in the rat. In: Méchanisme physiologique de la sécrétion lactée. Coll. Int. du C!N.R.S.(Strasbourg), p.29

147. LYONS W.R. - 1958 - Hormonal synergism in mammary growth. Proc.Soc.roy.B. 149 303

148, LYONS W.R. und H.R.CATCHPOLE - 1933 - Essay with an guinea pig of the lactogenic hypophyseal hormon. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 31 299

149. LYONS W.R. und R.E.JOHNSON - 1952 - Embedding stained mammary glands in plastic. Stain Technol. 28 201

150. LYONS W.R., C.H.LI, R.D.COLE und R.E.JOHNSON - 1953 - Some of the hormones required by the mammary gland in its development and function. J.clin. Endocr. 13 836

151. LYONS W.R., C.H.LI und R.E.JOHNSON - 1956 - Direct action of mammary-stimulating hormones.J.clin. Endocr. 16 967

152. LYONS W.R., R.E.JOHNSON und C.H.LI - 1957 - Local action of pituitary and ovarian hormones on the mammary glands of hypophysectomized-oöphorectomized rats. Anat.Rec. 127 432

153. LYONS W.R., C.H.LI und R.E.JOHNSON - 1958 - The hormonal control of mammary growth and lactation. Recent Progr. Hormone Res. 14 219

154. LYONS W.R. und R.I.PENCHARZ - 1936 - Reactions of mammary glands of normal and hypophysectomized male guinea-pigs to female sex hormone. Proc. Soc. expl.Biol.(N.Y.) 33 589

155. LYONS W.R., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1941 - Influence of lactogenic preparations on mammary glands and time of vaginal opening in young rats. Proc. Soc. exptl. Biol. (N.Y.) 48 634

156. LYONS W.R., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1942 - Lobulo-alveolar mammary growth in hypophysectomized rats. Anat. Rec. 82 430

157. LYONS W.R., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1943 - Hormonal requirement for pregnancy and mammary development in hypophysectomized rats. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 52 134

158. MARSHALL F.H.A. und E.T.HALNAN - 1917 - On the post-oestrus changes occurring in the generative organs and mammary glands of the non-pregnant dog. Proc. roy.Soc.B 89 546

159. MAYER G. und M.KLEIN - 1948 - Physilogie de la lactation. I. Les facteurs du développement morphologique du parenchyme mammaire. Ann.Nutr. (Paris) 2 113

160. MAYER G. und M.KLEIN - 1960 - Histology and Cytology of the mammary gland. In: S.K.KON und A.T.COWIE (eds.), milk: The mammary gland and its secretion, chapt.2 New York: Academic Press

161. McCANN S.M. und H.M.FRIEDMAN - 1960 - The effect of hypothalamic lesions on the secretion of luteotrophin. Endocrinology 67 597

162. MEITES J. - 1954 - Recent studies on the mechanism controlling the initiation of lactation. Rev. canad.Biol.13 359

163. MEITES J. - 1957 - Effects of growth hormone on lactation and body growth of parturient rats. Proc.Soc.expl. Biol.(N.Y.) 96 730

164. MEITES J. - 1965 - Maintenance of the mammary lobulo-alveolar system in rats after adreno-orchidectomy by prolactin and growth hormone. Endocrinology 76 1220

165. MEITES J., T.F.HOPKINS und P.K.TALWALKER - 1963 - Induction of lactation in pregnant rabbits with prolactin, cortisol acetate or both. Endocrinology 73 261

166. MEITES J. and C.S.NICOLL - 1966 - Adenohypophysis: Prolactin. Annual Review of Physiology 28 57

167. MEITES J. und J.T.SGOURIS - 1953 - Can the ovarian hormones inhibit the mammary response to prolactin? Endocrinology 53 17

168. MEITES J. und J.T.SGOURIS - 1954 - Effects of altering the balance between prolactin and ovarian hormones om initiation of lactation in rabbits. Endocrinology 55 530

169. MEITES J. und C.W.TURNER - 1942 - Effects of estrone on lactogen content in pituitary and blood of male rabbits. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 49 190

170. MEITES J. und C.W.TURNER - 1950 - In: Hormone Assay 237-260 (Emmens,C.W., ed. Academic Press N.Y.)

171. MINGUCHI H., J.A.CLEMENS und J.MEITES - 1968 - Changes in pituitary prolactin levels in rats from weaning to adulthood. Endocrinology 82, 555

172. MINAGUCHI H. und J.MEITES - 1967 - Effects of suckling on hypothalamic LH-releasing factor and Prolactin-inhibiting factor and on pituitary LH and prolactin. Endocrinology 80 603

173. MIRONOW R. - 1894 - De l'influence du système nerveux sur le fonctionnement des glandes mammaires. Arch. Biol. St.Petersburg 3 353

174. MIRSKY A.E. und H.RIS - 1949 - Variable and constant components of chromosones. Nature (Lond.) 163 666

175. MISHKINSKY J., Z.K.LAJTOS und F.G.SULMAN - 1966 - Initiation of lactation by hypothalamic implantation of perphenazine. Endocrinology 78 919

176. MITTLER J.C. und J.MEITES - 1964 - In vitro stimulation of pituitary follicle-stimulating-hormone release by hypothalamic extract. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 117 309

177. MIXNER J.P. und C.W.TURNER - 1942 - Role of estrogen in the stimulation of mammary lobule-alveolar growth by progesterone and by the mammogenic lobule-alveolar growth factor of the anterior putuitary. Endocrinology 30 591

178.MIXNER J.P. and C.W.TURNER - 1942 - Influence of thyroxine upon mammary lobule-alveolar growth. Endocrinology 31 345

179. MIXNER J.P. und C.W.TURNER - 1943 - The mammogenic hormones of the anterior pituitary.II.The lobule-alveolar growth factor. Mo.Agr.Exp.Sta.Res.Bull. 378

180. MIZUNO H., K.IIDA und M.NAITO - 1955 - The role of prolactin in the mammary alveolus formation. Endocr. Japon. 2 163

181. MIZUNO H. und M.NAITO - 1956 - The effect of locally administered prolactin on the nucleic acid content of the mammary gland in the rabbit. Endocr. Japon. 3 227

182. MOON R.C. - 1962 - Influence of graded thyroxine levels on mammary gland growth. Amer.J.Physiol. 203 942

183. MOON R.C., D.R.GRIFFITH and C.W.TURNER - 1959 - Normal and experimental growth of rat mammary gland. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 101 788

184. MOORE C.R. und D.PRICE - 1942 - Differentiation of embryonic reproduction tissues of the rat after transplantation into postnatal hosts. J.exp. Zool. 90 229

185. MYERS J.A. - 1916 - Studies on the mammary gland.I.The growth and distribution of the milk-ducts and the development of the nipple in the albino rat from birth to ten weeks of age. Amer.J.Anat. 19 353

186. MYERS J.A. - 1917 - Studies on the mammary gland.II. The fetal development of the mammary gland in the female albino rat. Amer.J.Anat. 22 195

187. MYERS J.A. - 1917 - Studies on the mammary gland. III. A comparison of the developing mammary glands in male and female albino rats from the late fetal stages to ten weeks of age. Anat.Rec. 13 205

188. MYERS J.A. - 1919 - Studies on the mammary gland. IV. The histology of the mammary gland in male and female albino rats from birth to ten weeks of age. Amer.J.Anat. 25 395

189. MYERS J.A. - 1919 - Studies on the mammary gland. V. The effects of inanition on the developing mammary glands in male and female albino rats from birth to ten weeks of age. Anat.Rec. 16 159

190. NATHANSON I.T., D.T.SHAW und C.C.FRANSEEN - 1939 - Effect of simultaneous administration of growth complex and estradiol on mammary gland of hypophysectomized rat. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 42 652

191. NELSON W.O. - 1935 - Gonad hormone effects in normal, spayed and hypophysectomized rats. Anat.Rec. (Suppl.1) 64 52

192. NELSON W.O. - 1950 - Interrelations of steroid and hypophyseal hormones and their effects on the mammary glands. In: Mécanisme physiologique de la secretion lactee. Coll.Int.du C.N.R.S. (Strasbourg) p.19

193. NELSON W.O. - 1952 - Hypophyseal and ovarian hormones in the regulation of the mammary glands. Ciba Found. 4 402

194. NEUMANN F. und W.ELGER - 1965 - Physiological and psychical intersexuality of male rats by early treatment with an antiandrogenic agent. Acta Endocr. (Suppl.) 100 174, Abstract No. 142

195. NEUMANN F. und W.ELGER - 1966 - The effect of the antiandrogen 1,2-alpha-methylene-6-chloro-delta 4,6-pregnadiene-17alpha-ol-3,20-dione-17alpha-acetate (cyproterone acetate) on the development of the mammary glands of male foetal rats. J.Endocr. 36 347

196. NEUMANN F. und W.ELGER - 1967 - Steroidal stimulation of mammary glands in prenatally feminized male rats. Europ.J.of Pharmacology 1 120

197. NEUMANN F., W.ELGER und R.v.BERSWORDT-WALLRABE - 1966 - The structure of the mammary glands and lactogenesis in feminized male rats. J.Endocr. 36 353

198. NEUMANN F., W.ELGER und R.v.BERSWORDT-WALLRABE - 1967 - Intersexualität männlicher Feten und Hemmung androgenabhängiger Funktionen bei erwachsenen Tieren durch Testosteronblocker. Dtsch.med. Wschr. 92 360

199. NEUMANN F., W.ELGER, R.v.BERSWORDT-WALLRABE und M.KRAMER - 1966 - Beeinflussung der Regelmechanismen des Hypophysen-Zwischenhirnsystems von Ratten durch einen Testosteron-Antagonisten. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp.Path.Pharmak. 255 221

200. NEUMANN F., W.ELGER und M.KRAMER - 1966 - The development of a vagina in male rats by inhibiting the androgen receptors with an antiandrogen during the critical phase of organogenesis. Endocrinology 78 628

201. NEUMANN F., J.D.HAHN und M.KRAMER - 1967 - Hemmung von testosteronabhämgigen Differenzierungsvorgängen der männlichen Ratte nach der Geburt. Acta Endocr. 54 227

202. NEUMANN F. und H.HAMADA - 1963 - Intruterine Feminisierung männlicher Rattenfoeten durch das stark getsgen wirksame 6-clor-delta6-1,2 alpha-methylen-17 alpha-hydroxy-progesteron-azetat. 10.Symp. Gesellsch.Endocr., Wien (7.-9. März 1963)

203. NEUMANN F. und M.KRAMER - 1964 - Antagonism of androgenic and antiandrogenic agents in their action on the rat fetus. Endocrinology 75 428

204. NICOLL C.S. - 1967 - Bio - assay of prolactin. Analysis of the pigeon crop-sac response to local prolactin injection by an objective and quantitative method. Endocrinology 80 641

205. NICOLL C.S. und J.MEITES - 1962 - Estrogen stimulation of prolactin production by rat adenohypophysis in vitro. Endocrinology 70 272

206. NICOLL C.S. and J.MEITES - 1964 - Prolactin secretion in vitro: Effects of gonadal and adrenal cortical steroids. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 117 579

207. NIKITOVITCH - WINER M.B. - 1965 - Effect of hypophysial stalk transection on luteotropic hormone secretion in the rat. Endocrinology 77 658

208. OLIVEREAU M. - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Natl.Rech.Sci.Paris 315-329

209. PARKES A.S. - 1926 - Observations on the oestrus cycle of the albino mouse. Proc.roy.Soc. B 100 151

210. PASTEELS J.L. - 1963 - In: Colloques Int.ctr.natl. rech.sci. 128-137

211. PETERSEN W.G., C.B.KNODT, T.M.LUDWICK und B.S.POMEROY - 1944 - Mammary development in the thyroprived bovine by stilbestrol and thyroprotein administration. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 57 332

212. PFISTER M. - 1901 - Über die reflektorischen Beziehungen zwischen Mammae und Genitalia muliebria. Beitr.Geburtsh. 5 421

213. PHOENIX C.H., R.W.GOY, A.A.GERALL und W.C.YOUNG - 1959 - Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behaviour in the female guinea-pig. Endocrinology 65 369

214. PIACSEK B.E. und J.MEITES - 1967 - Reinitiation of gonadotrophin release in underfed rats by constant light or epinephrine. Endocrinology 81 535

215. PRICE D. und R.PANNABECKER - 1956 - Organ culture studies of foetal rat reproductive tracts. Ciba Found.Coll.on ageing 2 3

216. PURVES H.D. - 1961 - Sex and Internal Secretions 1 161. YOUNG W.C., Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.

217. RAYNAUD A. - 1961 - Morphogenesis of the mammary gland. In: KON S.K. und A.T.COWIE (Ed.): The mammary gland and its secretion, p.3, New York - London Academic Press

218. RAYNAUD A. und M.FRILLEY - 1947 - Effets sur le développement du tractus génital des embryons de souris, de la destruction des ébauches de leurs glandes génitales, par une irradiation au moyen des rayons X, à l'age de treize jours. C.R.Soc.de Biol. (Paris) 141 1134

219. RAYNAUD A. und M.FRILLEY - 1949 - Le développement embryonnaire de la glande mammaire de la souris après destruction au moyen des rayons X des glandes génitales de l'embryon. Bull.Soc.Zool. France 74 156

220. RAMIREZ V.D. und S.M.McCANN - 1964 - Induction of prolactin secretion by implants of oestrogen into the hypothalamo-hypophysial region of female rats. Endocrinology 75 206

221. RATNER A. und J.MEITES - 1964 - Removal of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by oestrogen, reserpine, or suckling. Federation Proceedings 23 110

222. RATNER A. und J.MEITES - 1964 - Depletion of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by estradiol or suckling stimulus. Endocrinology 75 377

223. RATNER A., P.K.TALWALKER und J.MEITES - 1963 - Effect of estrogen administration in vivo on prolactin release by rat pituitary in vitro. Proc.Soc. exp.Biol.(N.Y.) 112 12

224. REECE R.P. - 1958 - Mammary gland development and function. In: J.T.VELARDO (ed.), The endocrinology of reproduction, p.213. New York and Oxford: University Press.

225. REECE R.P., J.W.BARTLETT, I.L.HATHAWAY und H.P.DAVIS - 1940 - Hormonal inhibition of lactation. Proc. Soc.exp.Biol.(N.Y.) 43 183

226. REECE R.P. und J.A.BIVINS - 1942 - Progesterone effect on pituitary lactogen content and on mammary glands of ovary ectomized rats. Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 49 582

227. REECE R.P. and J.H.LEATHEM - 1945 - Groeth of mammary glands of hypophysectomized rats following estrogen and lactogen administration. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 59 122

228. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1939 - Further evidence for a mammogenic factor in the rat hypophysis. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 42 200

229. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1941 - Effect of oestrogens, gonadotropins and growth hormone on mammary glands of hypophysectomized rats. Endocrinology 29 297

230. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1942 - Lobule-alveolar growth of mammary glands os hypophysectomized female rats. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 49 600

231. REECE R.P., C.W.TURNER und R.T.HILL - 1936 - Mammary gland development in the hypophysectomized albino rat. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 34 204

232.RENNELS E.G. - 1962 - An electron microscope study of pituitary autograft cells in the rat. Endocrinology 69 713

233. RENNELS E.G., D.M.ANIGSTEIN und L.ANIGSTEIN - 1961 - In: Texas Rept.Biol.Med. 19 159, zitiert nach MEITES und NICOLL 1966

234. RIDDLE O. und R.W.BATES - 1939 - The preparation, assay and actions of lactogenic hormone. In: E.ALLEN, sex and internal secretions. 2.Aufl.Baltimore, Williams and Wilkins Co.

235. RIDDLE O., R.W.BATES und S.W.DYKSHORN - 1933 - The preparation, identification and assay of prolactin - a hormone of the anterior pituitary. Amer.J. Physiol. 105 191

236. ROBBOY S.J. und R.H.KAHN - 1966 - Zone electrophoresis and prolactin activity of rat adenohypophysis cultivated in vitro. Endocrinology 78 440

237. ROEHRIG A. - 1876 - Experimentelle Untersuchungen über die Physiologie der Milchabsonderung. Virchows Arch. 67

238. ROTH L.L. und J.S.ROSENBLATT - 1966 - Mammary glands of pregnant rats: Development stimulated by licking. Science 151 1403

239. ROTHCHILD I. - 1960 - The corpus luteum pituitary relationship: The association between the cause of luteotrophin secretion and the cause of follicular quiescence during lactation; the basis for a tentative theory of the corpus luteum pituitary relationship in the rat. Endocrinology 67 9

240. ROTHCHILD I. - 1965 - Interrelations between progesterone and the ovary, pituitary and central nervous system in the control of ovulation and regulation of progesterone secretion. Vitam. and Horm. 23 209

241. ROTHCHILD I. und R.DICKEY - 1960 - The corpus luteum pituitary relationship: a study of the compensatory hypertrophy of the ovary during pseudopregnancy and lactation in the rat. Endocrinology 67 42

242. RUINEN F.H. - 1932 - Über den Angriffspunkt der Mammawirkung von Menformon. Acta brev.neerl.Physiol. 2 161

243. SAR M. und J.MEITES - 1967 - Changes in pituitary prolactin release and hypothalamic PIF-content during the estrous cycle of rats. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 125 1018

244. SAR M. und J.MEITES - 1968 - Effects of progesterone, testosterone and cortisol on hypothalamic PIF and pituitary prolactin content. Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 127 426

245. SAWYER C.H., C.K.HAHN, J.HILLIARD, H.M.RADFORD und S.KANEMATSU - 1963 - Further evidence for the identity of hypothalamic areas controlling ovulation and lactation in the rabbit. Endocrinology 73 338

246. SCHALLY A.V., A.KUROSHIMA, Y.ISCHIDA, T.W.REDDING und C.Y.BOWERS - 1965 - The presence of prolactin inhibiting factor (PIF) in extracts of beef, sheep and pig hypothalami. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 118 350

247. SCHNEIDER W.G. - 1945 - Phosphorus compounds in animal tissues. I.Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. J.Biol.Chem. 161 293

248. SILVER M. -1953 a. - A quantitative analysis of the role of oestrogen in mammary development in the rat. J.Endocr. 10 17

249. SILVER M. - 1953 b. - The onset of allometric mammary growth in the hooded norway rat. J.Endocr. 10 35

250. SINHA Y.N. und H.A.TUCKER - 1966 - Mammary gland growth of rats between ten and hundred days of age. Amer.J.Physiol. 210 601

251. SMELSER G.K. - 1933 - The response of guinea-pig mammary glands to injected sex hormones and ovarian grafts and its besring on the problem of sex hormone antagonism. Physiol.Zool. 6 396

252. SMITHCORS J.F. und S.L.LEONARD - 1942 - Relation of thyroid to mammary gland structure in the rat with special reference to the male. Endocrinology 31 454

253. SMITHCORS J.F. und S.L.LEONARD - 1943 - Limited effects of certain steroid hormones on mammary glands of hypophysectomized rats. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 54 109

254. SRIVASTANA L.S. und C.W.TURNER - 1966 - Experimental growth of mammary glands of male rats. Endocrinology 79 650

255. STEINBECK H. - 1969 - Die Wirkung der verschiedenen Gestagene auf Morphologie unf Funktion der Milchdrüse. In: Die Gestagene, Teil II. ; Handbuch der experimentellen Pharmakologie XXII./2; Herausgeber: K.JUNKMANN; Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York

256. STRICKER P. und F.GRUETER - 1928 - Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. C.R.Soc.Biol. Paris 99 1978

257. STRICKER P. und F.GRUETER - 1929 - Recherches expérimentales sur les fonctions du lobe antérieur de l'hypophyse: influence des extraits du lobe antérieur sur l'appareil génital de la lapine et sur la montée laiteuse. Presse med. 37 1268

258. SULMAN F.G., M.BEN-DAVID, A.DANON, S.DIKSTEIN, N.KHAZAN, J.MISHKINSKY und V.ZOR - 1963/64 - Studies on hypothalamic lactation. Investigation into the mechanism of lactation and its augmentation by hypothalamic stimulation. In: Research, Report 1963/64, The hebrew University of Jerusalem, Israel.

259. SWANSON H.E. und J.J. van der WERFF ten BOSCH - 1964 - The " early-androgen " syndrome; its development and the response to hemi-spaying. Acta Endocr. 45 1

260. TAKEWAKI K. - 1962 - Some aspects of hormonal mechanism involved in persistent oestrus in the rat. Experientia 18 1 (Basel)

261. TALWALKER P.K., J.MEITES und H.MIZUNO - 1964 - Mammary tumor induction by estrogen or anterior pituitary hormones in ovariectomized rats given 7,12-dimethyl-1,2-benzanthracene. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 116 531

262. TALWALKER P.K., A.RATNER und J.MEITES - 1963 - In vitro inhibition of pituitary prolactin synthesis and release by hypothylamic extract. Amer.J.Physiol. 205 213

263. TIXIER-VIDAL A. - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed. Centre Natl.Rech.Sci.Paris, 255-273

264. TRAURIG H.H. und C.F.MORGAN - 1964 a. - The effect of ovarian and hypophyseal hormones on mammary gland epithelial cell proliferation. Anat.Rec. 150 423

265. TRAURIG H.H. und C.F.MORGAN - 1964 b. - Autoradiographic studies of the epithelium of mammary gland as influenced by ovarian hormones. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 115 1076

266. TRENTIN J.J. und C.W.TURNER - 1948 - The experimental development of the mammary gland with special reference to interaction of the pituitary and ovarian hormones. Mo.Agr.Exp.Sta.Res.Bull. 418

267. TUCKER H.A., M.J.PAAPE und Y.N.SINHA - 1967 - Ovariectomy and suckling intensity effects on mammary nucleic acid, prolactin, and ACTH. Amer.J.Physiol. 213 262

268. TULLNER W.W. - 1963 - In: J.Ntl.Cancer Inst. Monograph, 12 211, zitiert nach MEITES und NICOLL 1966

269. TURNER C.W. und E.T.GOMEZ - 1933 - The normal development of the mammary gland of the male and female albino mouse. Mo.Agr.Exp.Sta.Res.Bull. 182

270. WEBB J.M. und H.B.LEVY - 1955 - A sensitive method for the determination of deoxyribonucleic acid in tissues and microorganisms. J.Biol.Chem. 213 107

271. WEICHERT C.K., R.W.BOYD und R.S.COHEN - 1934 - A study of certain endocrine effects on the mammary glands of female rats. Anat. Rec. 61 21

272. WHITE A., R.W.BONSNES und C.N.H.LONG - 1942 - Prolactin J.Biol.Chem. 143 447

273. WOLTHUIS O.L. - 1963 a. - An assay of prolactin based on a direct effect of this hormone on cells of the corpus luteum. Acta Endocr. 42 364

274. WOLTHUIS O.L. - 1963 b. - A new prolactin assay method: Some experiments which provide arguments for its specifity. Acta Endocr. 42 380

275. WOLTHUIS O.W. - 1963 c. - The effects of sex steroids on the prolactin content of hypophyses and serum in rats. Acta Endocr. (Kbh.) 43 137

276. WOLTHUIS O.L. und S.E. DE JONGH - 1963 - The prolactin production and release of a pituitary graft and of the hypophysis in situ. Acta Endocr. 43 271

277. ZEILMARKER G.H. - 1963 - Experimental studies on the regulation of corpus luteum function in castrated male rats bearing a transplanted ovary. Acta Endocr. 43 246

278. YOUNG W.C., R.W.GOY und C.H.PHOENIX - 1964 - Hormones and sexual behaviour. Science 143 212

V. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. M.KRAMER danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und für die freundliche Beratung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Besonderer Dank gilt dem Leiter der Experimentellen Endokrinologie des Hauptlaboratoriums der SCHRING AG, Privat - Dozent Dr. F.NEUMANN sowie vor allem seinem Mitarbeiter Dr. W.ELGER, dessen Erfahrung und Hilfsbereitschaft in kritischen Phasen den Fortgang und Abschluß der Arbeit erleichterten. Dank schulde ich auch dem Ehepaar Dr. v.BERSWORDT - WALLRABE für die freundliche Anleitung und Unterstützung bei dem leider erfolglosen Taubenkropftest.

Den Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Endokrinologie möchte ich für ihre Hilfe besonders herzlich danken, vor allem Frl. H.ALTMANN, Frl. BOEHNISCH, Herrn ESCH und Frl. SPERLING.

VIII. L E B E N S L A U F

Ich wurde geboren am 25.11.1941 in Breslau als drittes und letztes Kind des Hauptmanns Bernt von Hasselbach und seiner Frau Eva, geb. Weichel. Mein Vater ist Ende 1944 gefallen. Meine Mutter ist seitdem berufstätig.

Die Grundschule besuchte ich zunächst in München. Umzüge meiner Mutter brachten einen häufigen Schulwechsel mit sich, sodaß ich Schulen in mehreren Bundesländern besuchte, bevor ich schließlich 1963 an der Oberrealschule Garmisch-Partenkirchen meine Reifeprüfung ablegte.

Von 1964 bis 1967 studierte ich an der Universität Freiburg im Breisgau. Die letzten klinischen Semester studierte ich an der Freien Universität Berlin, wo ich auch im Frühjahr 1970 das Staatsexamen bestand. Seit dieser Zeit arbeite ich an Berliner Krankenhäusern als Medizinalassistent.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33, Garystr. 45